

FUNCIONAMENTO COGNITIVO EM DOENTES COM ESCLEROSE MÚLTIPLA – ESTUDO NUMA POPULAÇÃO PORTUGUESA

ANA ALEXANDRA DUARTE MARTINS DA SILVA

Tese de doutoramento em Ciências Médicas

2014

ANA ALEXANDRA DUARTE MARTINS DA SILVA

FUNCIONAMENTO COGNITIVO EM DOENTES COM ESCLEROSE MÚLTIPLA – ESTUDO NUMA POPULAÇÃO PORTUGUESA

Tese de Candidatura ao grau de Doutor em Ciências
Médicas submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas
Abel Salazar da Universidade do Porto.

Orientadora:

Prof. Doutora Sara Marta Pereira dos Santos Cavaco
Professora Afiliada
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto.

Co-orientadores:

Prof.Doutor Xavier Montalban
Chairman of the Neurology---Neuroimmunology Department
Director of MS Centre of Catalonia (Cemcat), Vall d'Hebron
University Hospital and Research Institute Barcelona.

Prof. Doutor Luís Augusto Santos Menezes Monteiro
Professor Associado Convidado Aposentado
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto.

Prof. Doutor António Fernando Bastos Lima
Professor Catedrático Convidado Aposentado
Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto.

AGRADECIMENTOS

Uma tese é um trabalho académico individual no qual o autor defende uma ideia e sustenta a sua argumentação através de resultados de uma profunda investigação do tema. A concretização deste projeto resulta da contribuição de outras pessoas e do apoio de várias Instituições. Por isso, expresso aqui os meus agradecimentos:

Ao Centro Hospitalar do Porto - Hospital de Santo António (CHP-HSA), entidade que me permitiu desde os meus primeiros anos de aluna de Medicina (e continua a permitir) aprender, ensinar e investigar. Os trabalhos realizados no âmbito desta tese iniciaram-se na Consulta de Neurologia/Neuroimunologia do CHP-HSA, na qual são seguidos os doentes com Esclerose Múltipla (EM). Agradeço aos doentes e familiares a colaboração nos trabalhos. Será este o local apropriado para agradecer ao Diretor do Hospital, Dr. Sollari Allegro e ao Diretor Clínico, Dr. Paulo Barbosa que autorizaram e apoiaram a realização deste trabalho.

Ao Serviço de Neurologia do CHP-HSA, nomeadamente aos Diretores do Serviço do passado e atual (Prof. Castro Lopes, Prof. Doutor Bastos Lima, Prof. Doutor Manuel Correia), aos médicos e internos do serviço, à enfermagem, às administrativas e aos auxiliares por todo o apoio e a compreensão nos momentos mais difíceis de conciliar as actividades assistenciais e de investigação.

Ao Diretor de Serviço, Prof. Doutor Manuel Correia, pelo incentivo à investigação clínica no serviço e pelo seu apoio às actividades assistenciais e de investigação na área da Neuroimunologia.

À Dra. Ernestina Santos, um especial agradecimento, pelo seu trabalho incessante na consulta de Neuroimunologia, dedicação e valor científico. Só assim é possível conciliar uma intensa atividade assistencial com a atividade de investigação.

Ao Departamento de Neurociências e ao Departamento de Ambulatório, nomeadamente ao Prof. Doutor José Barros pelo trabalho que tem vindo a desenvolver no âmbito da organização da Consulta externa que permitiu melhorar os cuidados de saúde aos doentes tratados em ambulatório. O seu apoio e diria mesmo incentivo à multidisciplinaridade no trabalho permitiu-me manter atividades em diferentes locais, no Serviço de Neurologia, na Unidade Corino de Andrade e no Laboratório de Neurobiologia do Comportamento.

AGRADECIMENTOS

A todos os colegas que nos últimos anos realizaram comigo a consulta de Neuroimunologia e aos especialistas de diferentes áreas (nomeadamente Fisiatria, Psiquiatria de Ligação, Neurorradiologia e Urologia) que no CHP-HSA prestam cuidados de saúde aos doentes com EM. Agradeço o apoio e o trabalho de algumas internas em formação, especialmente à Dra. Ester Coutinho, à Dra. Isabel Moreira e à Dra. Raquel Samões, que colaboraram na recolha de dados desta tese e em períodos mais difíceis substituíram-me em tarefas da rotina assistencial.

À Enfermeira Teresa Gomes (enfermeira da Consulta de Neurologia aposentada desde 2013) e aos atuais elementos de enfermagem nomeadamente à enfermeira Catarina Teixeira pela competência, dedicação e rigor. Obrigado por terem possibilitado, ao longo destes anos, assegurar a atividade assistencial a um número cada vez maior de doentes com EM e ainda aumentar as atividades de investigação clínica.

Ao grupo de neuropsicólogas que realizaram as avaliações neuropsicológicas a doentes e sujeitos saudáveis, com especial agradecimento à Dra. Cláudia Pinto e à Dra. Inês Moreira. O trabalho de ambas foi indispensável para a recolha de dados do estudo.

Ao Laboratório de Imunogenética do Instituto Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto (ICBAS-UP), e aos seus colaboradores pela realização dos estudos genéticos em doentes e controlos. A qualidade e capacidade de trabalho da equipa deste Laboratório, a sua disponibilidade, competência e dedicação à investigação clínica permitiram criar um grupo de trabalho multidisciplinar, constituído por neurologistas, imunogeneticistas, neuropsicólogos e alunos de diferentes áreas em formação, com interesse particular na Neuroimunologia. Um obrigado especial à Dra. Andreia Bettencourt pelo seu trabalho nomeadamente na investigação desenvolvida na Imunogenética da Esclerose Múltipla, pela sua dedicação e apoio. Nos últimos anos à Dra. Dina Lopes pela dedicação e colaboração na coordenação de ensaios clínicos nesta área.

Ao Prof. Doutor Armando Teixeira Pinto, Prof. Doutora Denisa Mendonça, Dra. Estela Vilhena, Dra. Cláudia Camila Dias pelo trabalho de análise estatística, críticas e sugestões dadas a este trabalho.

À Unidade Corino de Andrade, em particular à Dra. Teresa Coelho, por me ter incentivado, apoiado e permitido manter atividades assistenciais e de investigação em duas áreas distintas da Neurologia: a Neuroimunologia e a Paramiloidose; pelo apoio na organização das atividades assistenciais e de investigação realizadas no âmbito da

Neuroimunologia; pelo conhecimento transmitido; e por último, mas não menos importante, pela compreensão e tolerância em momentos de difícil gestão do tempo.

À Prof. Doutora Isabel Leite, atualmente a viver e trabalhar em Oxford, pela formação que me deu ao longo do meu internato de Neurologia, por ter iniciado a consulta de Neuroimunologia do CHP-HSA, pelo seu contínuo apoio à formação dos internos de Neurologia do CHP-HSA e de outros hospitais Portugueses na área da Neuroimunologia.

Ao Prof. Paulo Pinho Costa e ao Prof. Doutor Castro Caldas, elementos que integraram, no primeiro ano, a comissão de acompanhamento desta tese, pela discussão que desenvolveram sobre o tema, salientando a necessidade de investigações que influenciaram os trabalhos desta tese.

Ao Prof. Doutor Bastos Lima, meu co-orientador, professor de Neurologia e Diretor de Serviço durante vários anos pelos seus ensinamentos, pela constante procura da exigência e rigor em todo o trabalho assistencial e de investigação e pelo apoio dado a este projeto.

Ao Prof. Doutor Luís Monteiro, meu co-orientador e meu mestre desde os anos de Faculdade, uma enorme gratidão por me ter ensinado o rigor, por me ter incentivado a conciliar a aprendizagem teórico-prática com uma atividade de investigação científica e pelas críticas e correções feitas nesta tese.

Ao Prof. Doutor Xavier Montalban, meu co-orientador e prestigiado investigador na área da Esclerose Múltipla por ter aceite co-orientar a tese, pelas críticas e sugestões.

À Prof. Doutora Sara Cavaco, minha orientadora, um muito especial agradecimento e uma enorme gratidão. A sua competência e rigor científico, a disponibilidade, generosidade, vivacidade e crítica das discussões, correções e sugestões feitas durante a orientação foram indispensáveis para concretização deste trabalho. Obrigado por todos os ensinamentos e por um ainda maior gosto pela investigação.

Às diferentes fontes de financiamento incluindo: International Society for Behçet Disease Young investigator Award 2006; Bolsa do CHP 2009 para o trabalho Académico inserido em tese de Doutoramento; Prémio “Sollari Allegro – Trabalho de Investigação” 2012 (1º lugar); Verbas de Ensaio Clínicos e Donativos das Empresas Farmacêuticas Bayer, Biogen-Idec, Merck-Serono, Novartis e Teva.

AGRADECIMENTOS

Às editoras das revistas científicas, agradeço as autorizações para a reprodução dos artigos e ao ICBAS que possibilitou a realização, concretização e impressão desta tese.

Assim, espero que este trabalho possa contribuir para tratar melhor os doentes, e me permita continuar a aprender, ensinar e investigar. Como está inscrito nas paredes do Hospital de Santo António, onde trabalho, os caminhos que se trilham vão-se fazendo. Ou, como dizia muitas vezes o Professor Corino de Andrade citando o poeta António Machado:

“Caminhante, são teus rastros
o caminho, e nada mais;
caminhante, não há caminho,
faz-se caminho ao andar.
Ao andar faz-se o caminho,
e ao olhar-se para trás
vê-se a senda que jamais
se há de voltar a pisar.”

Ao Miguel, ao Augusto, ao meu pai, à minha mãe, ao meu irmão, à minha avó e toda a minha família e amigos..... Um profundo obrigado por me terem acompanhado nesta caminhada.

Índice

Agradecimentos	iii
Índice de Figuras.....	ix
Índice de Quadros	ix
Publicações.....	xi
Abreviaturas e Definições.....	xiii
Resumo.....	xvii
Abstract.....	xix
Capítulo 1 – Revisão da Literatura	1
1.1. Aspetos clínicos e história natural da doença	4
1.1.1. Evolução e prognóstico da doença.....	6
1.1.2. Fatores demográficos e clínicos	7
1.2. Diagnóstico de EM e curso clínico	9
1.2.1. Fatores Imagiológicos	9
1.3. Etiopatogenia.....	10
1.3.1. Fatores ambientais	11
1.3.2. Fatores genéticos.....	12
1.3.2.1. Fatores genéticos de suscetibilidade	12
1.3.2.2. Fatores genéticos e expressão fenotípica	14
1.3.2.2.1. Sistema <i>HLA</i>	14
1.3.2.2.2. Apolipoproteína E (<i>APOE</i>).....	16
1.4. Funcionamento cognitivo na EM	17
1.4.1 Prevalência da disfunção cognitiva.....	18
1.4.2. Metodologias de estudo de funcionamento cognitivo.....	20
1.4.3. Avaliação neuropsicológica (NP).....	21
1.4.4. Fenótipo da disfunção cognitiva na EM	23
1.4.5. Natureza do défice cognitivo	26

1.4.6. Relação entre funcionamento cognitivo e características genéticas, demográficas, clínicas e imagiológicas.....	27
1.4.6.1. Características genéticas.....	27
1.4.6.1.1. Antígenos do sistema <i>HLA</i>	27
1.4.6.1.2. Alelo <i>ApoE ε4</i>	28
1.4.6.2. Características demográficas e clínicas	28
1.4.6.2.1. Características demográficas	28
1.4.6.2.2. Características clínicas.....	28
1.4.6.3. Características imagiológicas.....	32
1.4.7. Fatores protetores de disfunção cognitiva na EM	32
1.4.7.1. Reserva cerebral e cognitiva.....	32
1.4.7.2. Reserva cognitiva na EM	33
1.5. Evolução do Funcionamento Cognitivo na EM (abordagem longitudinal)	34
1.5.1. Fatores de risco de declínio cognitivo.....	34
1.5.1.1 Características demográficas.....	35
1.5.1.2 Características clínicas	35
1.6. Tratamento da disfunção cognitiva na EM	36
1.6.1. Reabilitação cognitiva.....	36
1.6.2. Tratamento farmacológico	37
Capítulo 2 – Estudos Realizados.....	39
Capítulo 2 (Primeira Parte) – Estudos Transversais	41
2.1. Estudo 1	45
2.2. Estudo 2	55
2.3. Estudo 3	81
2.4. Estudo 4	83
Capítulo 2 (Segunda Parte) – Estudo Longitudinal	85
2.5. Estudo 5	87
Capítulo 3 – Discussão e Conclusões	115

Capítulo 4 – Referências Bibliográficas	123
Capítulo 5 – Anexos	153

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Diferentes cursos clínicos de doença	5
Figura 2 - Capacidade do <i>EDSS</i> inicial discriminar os doentes com e sem declínio cognitivo moderado na avaliação final, em doentes com duração de doença entre seis e dez anos aquando da avaliação inicial (área da curva de ROC=0,761)	106
Figura 3 - Capacidade do <i>MSSS</i> inicial discriminar os doentes com e sem declínio cognitivo moderado na avaliação final, em doentes com duração de doença entre seis e dez anos aquando da avaliação inicial (área da curva de ROC= 0,783)	107

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 - Características demográficas, clínicas e genéticas dos doentes	50
Quadro 2 - Características demográficas, clínicas e genéticas de doentes com e sem deterioração cognitiva	51
Quadro 3 - Caracterização das áreas cognitivas avaliadas e número de doentes com défice nas diferentes medidas NP	63
Quadro 4 - Prevalência da disfunção cognitiva moderada em doentes e no grupo controlo ($\geq 25\%$ das medidas NP alteradas)	64
Quadro 5 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de deterioração cognitiva (<i>MMSE</i>) e de défice na destreza manual (<i>9HPT</i>)	67
Quadro 6: Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de disfunção em medidas de velocidade psicomotora e exploração visual	68
Quadro 7 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de disfunção em medidas de funções executivas.....	69
Quadro 8 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de disfunção em medidas de memória	70
Quadro 9 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de disfunção em medidas de atenção, memória de trabalho e linguagem.....	71
Quadro 10 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de disfunção cognitiva moderada	72

Quadro 11 - Comparação entre a frequência de défice em cada medida NP em doentes com baixa (Grupo 1 – escolaridade ≤ 9 anos) e elevada (Grupo 2 – escolaridade > 9 anos) escolaridade.....	73
Quadro 12 - Resumo dos principais procedimentos realizados no âmbito do estudo	89
Quadro 13 - Características sociodemográficas, clínicas e genéticas dos doentes	93
Quadro 14 - Características clínicas do grupo dos doentes.....	94
Quadro 15 - Frequência de declínio cognitivo em cada medida NP	95
Quadro 16 - Número e percentagem de doentes com declínio cognitivo em medidas NP	96
Quadro 17 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de declínio significativo numa medida de destreza manual	100
Quadro 18 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de declínio cognitivo em medidas de velocidade psicomotora e exploração visual	101
Quadro 19 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de declínio cognitivo em medidas de funções executivas.....	102
Quadro 20 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de declínio cognitivo em medidas de memória	103
Quadro 21 - Análise de Regressão logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de declínio cognitivo em medidas atenção, memória de trabalho e linguagem.....	104
Quadro 22 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de declínio cognitivo moderado	105
Quadro 23 - Capacidade do <i>EDSS</i> inicial discriminar os doentes com e sem declínio cognitivo moderado na avaliação final, em doentes com duração de doença entre seis e dez anos aquando da avaliação inicial	106
Quadro 24 - Capacidade do <i>MSSS</i> inicial discriminar os doentes com e sem declínio cognitivo moderado na avaliação final, em doentes com duração de doença entre seis e dez anos aquando da avaliação inicial.....	107

PUBLICAÇÕES

Na elaboração deste trabalho foram citados e incluídos resultados já publicados em forma de artigos:

1. Bettencourt A, Silva AM, Carvalho C, Leal B, Santos E, et al. (2014) The role of KIR2DS1 in multiple sclerosis: KIR in Portuguese MS patients. J Neuroimmunol 260:52-55.
2. Silva AM, Santos E, Moreira I, Bettencourt A, Coutinho E, et al. (2012) Olfactory dysfunction in multiple sclerosis: association with secondary progression. Mult Scler 18: 616-621.
3. Bettencourt A, Martins da Silva A, Pinho ECP, Martins Silva B (2012) Molecular genetic studies of multiple sclerosis in the Portuguese population. Acta Med Port 25: 224-230.
4. Cavaco S, Martins da Silva A, Santos E, Coutinho E, Marinho A, et al. (2012) Are cognitive and olfactory dysfunctions in neuropsychiatric lupus erythematosus dependent on anxiety or depression? J Rheumatol 39: 770-776.
5. Taipa R, da Silva AM, Santos E, Pinto PS, Melo-Pires M (2011) Gliomatosis cerebri diagnostic challenge: two case reports. Neurologist 17: 269-272.
6. Damásio J, Ramos C, Valdemar L, da Silva AM, Magalhães M (2011) A coincidental case of young-onset Parkinson disease and multiple sclerosis. Neurologist 17: 286-288.
7. da Silva AM, Vilhena E, Lopes A, Santos E, Gonçalves MA, et al. (2011) Depression and anxiety in a Portuguese MS population: associations with physical disability and severity of disease. J Neurol Sci 306: 66-70.
8. da Silva AM, dos Santos Cavaco SM, Taipa RJ, Pinto PR, Pires MJ (2011) Medulloblastoma and gliomatosis cerebri: rare brain tumors in multiple sclerosis patients. Neurol Sci 32: 893-897.
9. Bettencourt A, Silva AM, Santos E, Gomes S, Mendonça D, et al. (2011) HFE gene polymorphisms and severity in Portuguese patients with multiple sclerosis. Eur J Neurol 18: 663-666.
10. Silva AM, Bettencourt A, Pereira C, Santos E, Carvalho C, et al. (2009) Protective role of the HLA-A*02 allele in Portuguese patients with multiple sclerosis. Mult Scler 15: 771-774.
11. Silva AM, Pereira C, Bettencourt A, Carvalho C, Couto AR, et al. (2007) The role of HLA-DRB1 alleles on susceptibility and outcome of a Portuguese Multiple Sclerosis population. J Neurol Sci 258: 69-74.

12. Ban M, Booth D, Heard R, Stewart G, Goris A, et al. (2006) Linkage disequilibrium screening for multiple sclerosis implicates JAG1 and POU2AF1 as susceptibility genes in Europeans. *J Neuroimmunol* 179: 108-116.
13. Roxburgh RH, Seaman SR, Masterman T, Hensiek AE, Sawcer SJ, et al. (2005) Multiple Sclerosis Severity Score: using disability and disease duration to rate disease severity. *Neurology* 64: 1144-1151.
14. Martins Silva B, Thorlacius T, Benediktsson K, Pereira C, Fossdal R, et al. (2003) A whole genome association study in multiple sclerosis patients from north Portugal. *J Neuroimmunol* 143: 116-119.

ABREVIATURAS E DEFINIÇÕES

Abreviaturas

APOE - Apolipoproteína E

AVLT - *Auditory Verbal Learning Test*

AVLT 30 - *Auditory Verbal Learning Test* aos 30 minutos

AVLT imediato - *Auditory Verbal Learning Test* imediato

AVLT rec - *Auditory Verbal Learning Test* reconhecimento

BICAMS - *Brief International Cognitive Assessment for Multiple Sclerosis*

BRNB - *Brief Repeatable Neuropsychological Battery*

B-SIT - *Brief-Smell Identification Test*

CHP-HSA - Centro Hospitalar do Porto – Hospital de Santo António

Curva de ROC - *Receiver operating characteristic curve*

DA - Demência de Alzheimer

DP - Densidade Protónica

DTI - *Diffusion Tensor Imaging*

EDSS - *Expanded Disability Status Scale*

EM-PP - Esclerose Múltipla Primária Progressiva

EM-RR – Esclerose Múltipla Recidivante Remitente

EM-SR – Esclerose Múltipla Secundária Progressiva

FLAIR - *Fluid-attenuated inversion recovery*

FVL - Fluência Verbal Literal

GAMES - Genetic Analysis of Multiple Sclerosis in EuropeanS

GWAS - *Genome-Wide Association Studies*

HADS - *Hospital Anxiety and Depression Scale*

HADS a - *Hospital Anxiety and Depression Scale* ansiedade

HADS d - *Hospital Anxiety and Depression Scale* depressão

IP - Índice de Progressão

HLA - *Human Leucocyte Antigens*

LCR - Líquor

OR - *Odds Ratio*

MA - Matrizes atencionais

MACFIMS - *Minimal Assessment of Cognitive Function in MS*

MD - Memória de dígitos

MMSE - *Mini-Mental State Examination*

MSSS - *Multiple Sclerosis Severity Score*

MT - *Magnetization Transfer*

NAWM - *Normal-Appearing White Matter*

NP –neuropsicológica (os)

PASAT - *Paced Auditory Serial Addition Test*

RCI - *Reliable Change Index*

RF - Repetição de frases

RM – Ressonância Magnética

SCI – Síndrome Clinicamente Isolada

SDMT - *Symbol Digit Modalities Test*

SNC – Sistema Nervoso Central

SPSS - *Statistical Package for the Social Sciences*

SRI – Síndrome Radiológica Isolada

TC - Teste de Corsi

TMD – Terapêutica modificadora da doença

WCST - *Wisconsin Card Sorting Test*

WCST categorias - *Wisconsin Card Sorting Test* categorias

WCST erros - *Wisconsin Card Sorting Test* erros perseverativos

9HPT - *Nine-Hole Peg test*

Definições:

Deterioração cognitiva – desempenho no *MMSE* no espectro característico dos doentes com demência

Deficitário numa medida NP – desempenho inferior ao percentil 5 do grupo controlo nas medidas *WCST* categorias, *FVL*, *MA* respostas corretas, *AVLT*, *TC*, *MD*, *RF* e superior ao percentil 95% do grupo controlo no *9HPT*, *MA* tempo e *WCST* erros

Disfunção cognitiva moderada – desempenho deficitário em pelo menos 25% de medidas NP

Declínio cognitivo numa medida NP – quando o *RCI* é menor ou igual a -1 (ou seja, percentil ≤ 16 do grupo controlo)

Declínio cognitivo moderado – declínio cognitivo em pelo menos 25% das medidas NP

RESUMO

A Esclerose Múltipla (EM) é uma doença crónica caracterizada por heterogeneidade clínica. Os sintomas cognitivos e psiquiátricos podem surgir em qualquer fase da doença. No entanto, esta sintomatologia foi negligenciada durante largas décadas pelos clínicos e investigadores da área. Apesar dos recentes avanços, uma das questões que ainda não está completamente esclarecida é: qual a relação entre o funcionamento cognitivo e a incapacidade neurológica nos doentes com Esclerose Múltipla? Para responder a esta questão, um conjunto de estudos observacionais transversais e longitudinais, do tipo caso-controlo, foram realizados para caracterizar o funcionamento cognitivo e comportamental de uma população hospitalar de doentes Portugueses com EM.

Esta investigação incidiu sobre quatrocentos e dezanove doentes [266 mulheres, idade (mediana) = 39 anos, escolaridade (mediana) = 12 anos, duração de doença (mediana) = 8 anos; 332 com EM Recidivante Remitente, 44 EM Secundária Progressiva e 43 EM Primária Progressiva] e um grupo de sujeitos saudáveis com características demográficas comparáveis [n=159; 128 mulheres; idade (mediana) = 41 anos, escolaridade (mediana) = 12 anos]. Os doentes foram incluídos no estudo de forma consecutiva durante uma consulta de rotina, tendo sido realizada uma avaliação neurológica, aplicado o Nine-Hole Peg Test e feita colheita de uma amostra de sangue. Para cada doente foram calculadas as medidas *Expanded Disability Status Scale* e *Multiple Sclerosis Severity Score*. A avaliação neuropsicológica, nos doentes e nos sujeitos saudáveis foi realizada através de uma bateria de testes neuropsicológicos (*Mini Mental State Examination*, Matrizes Atencionais, *Wisconsin Card Sorting Test*, Fluência verbal literal, *Auditory Verbal Learning Test*, Memória de dígitos, Teste de Corsi, Repetição de frases e *Brief Smell Identification Test*). Foi também aplicado a todos os participantes uma escala de ansiedade e depressão - *Hospital Anxiety and Depression Scale*.

Foram identificados os domínios cognitivos mais vulneráveis à disfunção ou ao declínio e foram exploradas potenciais associações com fatores genéticos (*HLA-DRB1*15:01* e alelo *ApoE ε4*), demográficos (sexo, idade, escolaridade) e clínicos (duração de doença, curso, incapacidade e gravidade neurológica, índices de ansiedade e depressão). Foram utilizados métodos de estatística descritiva, de estatística inferencial e de análise de dados multivariados e foi considerado significativo um valor de $p < 0,05$. Todas as análises foram efetuadas utilizando o programa de análise estatística de dados *Statistical Package for the Social Sciences* ® v.21.0.

Numa população de doentes (n=419; estudo transversal) foi documentada deterioração cognitiva em 11% e disfunção cognitiva moderada em 19%. Foram observadas frequências de défice cognitivo superiores ao grupo controlo em testes que medem velocidade psicomotora, exploração visual, memória, funções executivas e olfato. Maior incapacidade e gravidade neurológica, curso secundário progressivo da doença, baixa escolaridade e índices de depressão elevados estavam associados, de forma independente, a défice em diferentes medidas cognitivas. Foram ainda encontradas uma associação robusta entre distúrbio olfativo e curso secundário progressivo de doença e uma relação forte entre sintomatologia depressiva e incapacidade neurológica.

Num subgrupo de doentes (n=176) e de sujeitos saudáveis (n=55) foi também estudada a evolução do funcionamento cognitivo, num período de três anos. Foi encontrado declínio cognitivo moderado em 27% dos doentes. Os domínios cognitivos mais suscetíveis ao declínio foram memória, velocidade psicomotora e linguagem. Verificou-se que a disfunção cognitiva inicial é preditiva de declínio em medidas de velocidade psicomotora, de exploração visual, de memória, de funções executivas e de declínio cognitivo moderado; apontando para uma evolução progressiva da disfunção cognitiva na EM. Para além da disfunção cognitiva inicial, a idade e a escolaridade foram identificados como fatores preditivos de declínio cognitivo em diversos domínios cognitivos. Verificou-se que a relação entre declínio cognitivo moderado num período de três anos e índices de incapacidade e gravidade neurológica depende da duração da doença. Estas variáveis clínicas foram preditivas de declínio cognitivo moderado em doentes com EM Recidivante-Remitente mas apenas entre os 6 e os 10 anos de duração da doença.

A associação encontrada entre escolaridade e défice cognitivo (no estudo transversal) e declínio cognitivo (no estudo longitudinal) é consistente com o papel da escolaridade como indicador de reserva cognitiva na Esclerose Múltipla.

A presença do alelo *HLA-DRB1*15:01* e do alelo *APOE ε4* não se encontra associada a deterioração cognitiva nem a declínio cognitivo.

Em síntese, este conjunto de estudos permitiu caracterizar o funcionamento cognitivo de doentes com EM e identificar o risco de desenvolver declínio cognitivo. Os nossos resultados apontam para uma relação variável entre funcionamento cognitivo e incapacidade neurológica ao longo da doença. A definição de um intervalo de tempo no qual a incapacidade/gravidade neurológica tem elevado valor preditivo de declínio cognitivo moderado é sugestivo da existência de uma possível “janela de oportunidade terapêutica” para prevenir ou atenuar as manifestações cognitivas da doença.

ABSTRACT

Multiple Sclerosis (MS) is a chronic disease with heterogeneous clinical presentation. Cognitive and psychiatric symptoms may occur at any phase of the disease. Nevertheless, this symptomatology was neglected for many decades by clinicians and researchers of the field. Despite some recent advances, one question has not been completely clarified: what is the relationship between cognitive functioning and neurological disability in patients with Multiple Sclerosis? To answer this question, a series of cross-sectional and longitudinal studies were conducted to characterize the cognitive-behavioral functioning of a clinical-based Portuguese population with Multiple Sclerosis (MS).

Four hundred and nineteen consecutive MS patients [266 women; age (median) = 39 years, education (median) = 12 years, disease duration (median) = 8 years, 332 Relapsing-Remitting MS, 44 Secondary Progressive MS and 43 Primary Progressive MS] and a group of healthy demographically comparable subjects [n=159; 128 women; age (median) = 41 years, education (median) = 12 years] were studied. Patients underwent a neurological examination, the Nine-Hole Peg Test was applied, and a peripheral blood sample was collected. Based on the neurological examination, the Expanded Disability Status Scale and the Multiple Sclerosis Severity Score were calculated. Both MS patients and HC subjects performed a comprehensive battery of neuropsychological tests (Mini Mental State Examination, Attentive Matrices, Wisconsin Card Sorting Test, Letter Word Fluency, Auditory Verbal Learning Test, Digit Span, Corsi Block-Tapping Test, Sentence Repetition and Brief Smell Identification Test). All participants also answered the Hospital Anxiety and Depression Scale.

The cognitive domains most vulnerable to dysfunction or decline were identified and potential associations with genetic (*HLA-DRB1*15:01* and *ApoE ε4* allele), demographic (sex, age, and education) and clinical (disease duration, course, neurological disability and severity, and anxiety and depression indexes) variables were explored. Descriptive statistics, inferential statistics, and multivariate data analysis were used and results were considered statistically significant when $p < 0.05$. All analyses were performed with *Statistical Package for the Social Sciences*® v.21.0.

On 419 MS patients (cross-sectional study), cognitive deterioration was found in 11% of patients and moderate cognitive dysfunction was observed in 19% of patients. Abnormal frequencies of cognitive deficits were detected in tests that measure psychomotor speed, visual exploration, memory, executive functions, and olfaction. Higher neurological disability and severity, lower education, secondary course of disease, and higher depression

symptoms were independently associated with deficit in an array of cognitive measures. Also, a robust association was found between olfactory disturbance and secondary progressive course, and a strong relationship was observed between depression symptoms and neurological disability.

In a prospective longitudinal study, the evolution of cognitive functioning in a three-year period was studied in a subgroup of 176 patients and 55 healthy controls. Moderate cognitive decline was found in 27% of patients. The cognitive domains most vulnerable to decline were: memory, psychomotor speed, and language. Initial cognitive dysfunction was predictive of decline in measures of psychomotor speed, visual exploration, memory and executive functions, and was predictive of moderate cognitive decline. These results suggest that cognitive dysfunction in Multiple Sclerosis may have a progressive course. Age and education were also identified as predictive factors of decline in multiple cognitive domains.

The association between moderate cognitive decline in a three-year period and neurological disability / severity depends on disease duration. These clinical variables were only predictive of moderate cognitive decline in patients with relapsing and remitting course with 6 to 10 years of disease duration.

The association between education and cognitive deficit (transversal study) and cognitive decline (longitudinal study) supports the role of education as a proxy of cognitive reserve in Multiple Sclerosis.

The presence of *HLA-DRB1*15:01* or *ApoE ε4* alleles were not statistically associated with cognitive deterioration or cognitive decline.

In summary, the results from this series of research studies contributed to characterize cognitive functioning in patients with Multiple Sclerosis and to identify the risk of cognitive decline. The findings point to a varying relationship between cognitive functioning and neurological disability throughout the disease. The definition of a time interval in which neurological disability/severity predicts moderate cognitive decline suggests the existence of a possible “window of therapeutic opportunity” for cognitive manifestations of the disease.

CAPÍTULO 1 – REVISÃO DA LITERATURA

REVISÃO DA LITERATURA

A Esclerose Múltipla foi identificada como entidade nosológica em 1877 por Charcot, com base nos estudos neuropatológicos e descrita como uma doença com envolvimento predominantemente da substância branca cerebral, tronco cerebral, nervos óticos e medula espinal ^{1; 2}. Atualmente é reconhecida como uma doença que para além da substância branca, atinge frequentemente e por vezes precocemente a substância cinzenta cerebral, seja o córtex cerebral ou estruturas mais profundas como o tálamo ³. Os avanços no conhecimento sobre as estruturas cerebrais envolvidas na EM, tendo como base estudos anatomopatológicos e imagiológicos ³⁻⁷ permitiram uma melhor compreensão dos aspetos cognitivo-comportamentais da doença. O progressivo reconhecimento do impacto negativo da disfunção cognitiva na qualidade de vida e no dia-a-dia dos doentes justifica o crescente interesse por esta área nas últimas duas décadas.

1.1. Aspetos clínicos e história natural da doença

A EM é uma doença crónica de natureza inflamatória que afeta o Sistema Nervoso Central (SNC) e que se caracteriza pela presença de fenómenos de inflamação, desmielinização e degenerescência axonal⁸⁻¹¹. As lesões podem envolver o encéfalo, o nervo ótico e a medula espinal, provocando disfunção e incapacidade neurológica⁸.

Nos países ocidentais, a EM constitui a causa mais frequente de incapacidade neurológica não traumática em adultos jovens, afetando cerca de 2,3 milhões de pessoas no mundo, sendo que pelo menos 400.000 se encontram na Europa e 500.000 nos EUA¹².

Trata-se de uma doença com grande variabilidade na sua expressão clínica e modo de evolução, tendo sido identificados diferentes cursos clínicos que, de acordo com *Lublin and Reingold*¹³, são:

- i. Esclerose Múltipla Recidivante-Remitente (EM-RR): Forma de doença em que os doentes apresentam manifestações clínicas por surtos bem definidos, seguindo-se recuperação completa ou parcial. Os períodos entre os surtos caracterizam-se por ausência de progressão da doença.
- ii. Esclerose Múltipla Secundaria Progressiva (EM-SP): Forma de doença inicialmente com curso recidivante-remitente seguido por uma progressão com ou sem surtos, remissões mais curtas e progressão entre os surtos.
- iii. Esclerose Múltipla Primária Progressiva (EM-PP): Forma de doença em que existe uma progressão desde o início com ocasional “plateau” e melhoria clínica “minor” de pequena duração.
- iv. Esclerose Múltipla Progressiva Recidivante (EM-PR): Forma de doença em que existe uma progressão desde o início, com surtos bem definidos com recuperação completa ou parcial. Os períodos entre os surtos caracterizam-se por uma contínua progressão.

Em cerca de 85% dos doentes, a doença inicia-se por surtos¹⁴. Num número significativo destes casos, observam-se, logo no primeiro episódio, nos exames de Ressonância Magnética (RM), lesões sugestivas de doença desmielinizante, cumprindo os critérios de uma síndrome clinicamente isolada (SCI)¹⁵⁻¹⁷. Na maioria destes casos, a apresentação é monofásica, podendo contudo existir simultaneamente sinais clínicos ou paraclínicos que suportem a disseminação no espaço (por exemplo: lesões na RM em locais não relacionados com a clínica) e no tempo (isto é quando existem lesões captantes e não

captantes de contraste)^{18; 19}. O risco de doentes com SCI desenvolverem EM varia com o tipo de apresentação clínica, o número e o tipo de lesões apresentadas na RM e a presença ou ausência de bandas oligoclonais no liquor (LCR)^{15; 17; 20}

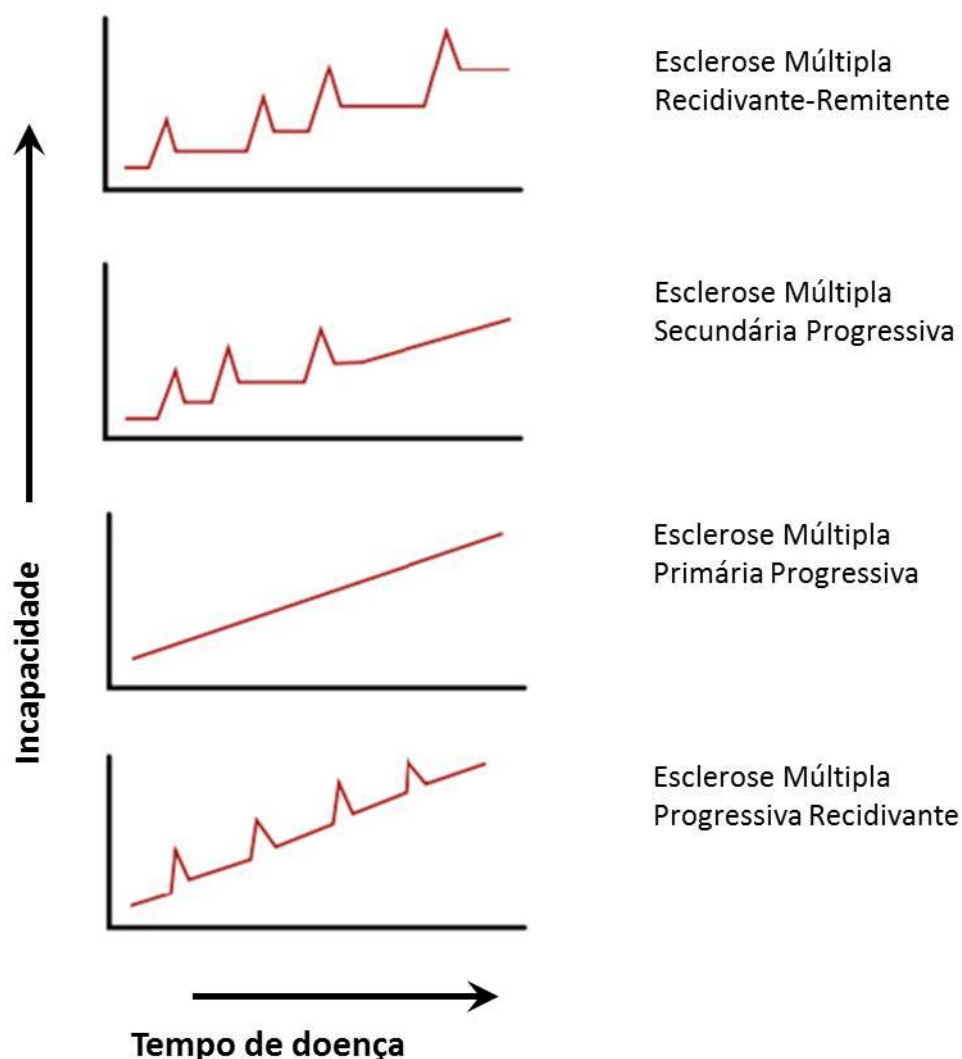


Figura 1 – Diferentes cursos clínicos de doença (Adaptado de *Lublin and Reingold 1996*)

Estudos recentes sobre a história natural da doença sugerem que o fenótipo clínico e o curso da doença são dependentes do tempo de doença e da idade^{14; 21; 22}, suportando o conceito “unificador do curso clínico” da EM, no qual o aparecimento da fase progressiva da doença estaria relacionada com a idade do doente e não com diferente patogénese. Isto é, os doentes com curso EM-PP seriam “formas amputadas” da fase inicial do curso recidivante-remitente e a evolução em doentes com EM-SP e EM-PP seria essencialmente similar. Este conceito, ainda que defendido por alguns autores, não é consensual^{14; 23; 24}.

Por outro lado, estudos neuropatológicos têm demonstrado que a heterogeneidade clínica da EM está relacionada com diferentes padrões de desmielinização e lesão axonal^{25; 26}. Os mecanismos descritos na patogênese da lesão tecidual na EM englobam 4 padrões: infiltrados de linfócitos T e macrófagos (padrão I); reações mediadas por anticorpos e componentes do complemento contra oligodendrócitos e mielina (padrão II); lesões por “hipoxia-like” resultantes de lesões inflamatórias vasculares ou de toxinas associadas à ação de macrófagos que perturbariam o funcionamento mitocondrial (padrão III); e defeitos genéticos ou polimorfismos responsáveis pela suscetibilidade primária dos oligodendrócitos à lesão imunológica que sugerem uma oligodendropatia (padrão IV). Em cada doente podem ocorrer diferentes padrões. No entanto, o padrão II foi encontrado em todos os doentes com neuromielite ótica, o padrão III em doentes com lesões concêntricas de Balo e o padrão IV em doentes com formas EM-PP²⁵. A heterogeneidade patológica na EM poderá ser explicada por diferentes fatores de suscetibilidade genética e poderá ajudar a compreender a variabilidade da resposta a algumas terapêuticas^{25; 27; 28}.

A distribuição das lesões em diferentes locais no SNC explica a grande variedade de sintomas e sinais que ocorre ao longo da evolução da doença^{5; 8}. Os mais comuns, ainda que não sendo específicos da EM, refletem o envolvimento preferencial dos feixes de substância branca. Algumas apresentações clínicas iniciais, tais como a nevrite ótica unilateral e a oftalmoplegia internuclear, levam a maioria dos neurologistas a considerar quase automaticamente o diagnóstico de EM sobretudo se ocorrerem em doente jovem. Outros sintomas mais raros ou atípicos, tais como sintomas disautonômicos ou neuropsiquiátricos, implicam a exclusão exaustiva de outras causas que possam mimetizar a doença^{15; 17}.

Em síntese, a EM deve ser considerada como uma doença com diferentes fenótipos clínicos, em vez de uma entidade com diferentes fases de evolução¹⁷.

1.1.1. Evolução e prognóstico da doença

A evolução clínica da EM é muito variável e difícil de prognosticar no seu início, devido ao envolvimento de diferentes vias anatómicas, à variabilidade do limiar de lesão dessas vias para resultar em expressão clínica e à sua capacidade de recuperação funcional^{17; 29}. O espectro de gravidade da doença é múltiplo, variando desde formas “assintomáticas” denominadas “síndrome radiológica isolada” (SRI)³⁰⁻³⁵, formas benignas

com incapacidade mínima após décadas de doença ^{29; 36; 37}, até variantes “malignas” que resultam em incapacidade grave num curto período de tempo ³⁸⁻⁴⁰.

O conhecimento da história natural da doença é um contributo importante na orientação da prática clínica. Ainda que a heterogeneidade clínica seja comum na EM, os estudos de história natural da doença servem de suporte ao neurologista para aconselhar e informar o doente sobre o provável prognóstico e ajudar nas suas orientações terapêuticas e são fundamentais para a investigação médica. São úteis, por exemplo, para se testarem novas terapêuticas, nomeadamente para a elaboração do desenho de ensaios clínicos intervencionais onde é fundamental comparar o resultado da intervenção terapêutica com a história natural da doença ²².

1.1.2. Fatores demográficos e clínicos

Os estudos de história natural da doença têm também contribuído para caracterizar a progressão ou evolução, nomeadamente, da incapacidade - definição baseada na *Expanded Disability Status Scale (EDSS)* ⁴¹ - e para a identificação de possíveis fatores de prognóstico. A evolução da doença ao longo do tempo foi estudada em diversas populações [Europeias (Lyon - França ^{14; 42; 43}, Gotemburgo – Suécia ⁴⁴⁻⁴⁶) e Norte Americanas - Canadá ⁴⁷⁻⁵⁰], com resultados em grande parte sobreponíveis. Os estudos mais recentes em populações Norte-Americanas – Canadá ^{49; 51} apontam para um prognóstico global mais favorável do que o sugerido em estudos mais antigos.

A maioria dos doentes com EM apresenta inicialmente a forma EM-RR, podendo ocorrer conversão para EM-SP em cerca de 80% dos doentes com 25 anos de doença e com tempo médio estimado para início da fase secundariamente progressiva de 15 anos ^{50; 52}. A probabilidade de conversão para EM-SP aumenta com a duração da doença ^{48; 52}, estando a incapacidade acumulada associada ao aumento da carga lesional. Nas últimas décadas, surgiram estudos em coortes de doentes tratados com terapêutica modificadora da doença ou tratamentos modificadores da doença (TMD), nomeadamente Interferão beta, que demonstraram que o tempo médio estimado para início da fase progressiva é maior que nos doentes não tratados, e que a percentagem de doentes que converte para o curso secundário progressivo diminui de forma significativa comparativamente a doentes não tratados ⁵³⁻⁵⁵.

Algumas variáveis demográficas e clínicas são identificadas como possíveis fatores que permitem um prognóstico precoce, nomeadamente: sexo, idade de início, sintoma

inicial, curso inicial, intervalo de tempo entre 1º e 2º surto, número de surtos nos primeiros anos de doença e recuperação incompleta do 1º surto^{43; 52; 56}. O sexo masculino, início em idades mais avançadas, o atingimento de vias longas e o curso progressivo têm sido associados a pior prognóstico^{48; 56; 57}. Inversamente, o sexo feminino, a idade de início precoce, a nevrite ótica como apresentação inicial e o curso inicial recidivante remitente têm sido associados a melhor prognóstico^{21; 37; 48}. Numa revisão sistemática de estudos publicados entre 1966 e Maio de 2005⁵⁶ e numa investigação recente⁵², verificaram que os fatores preditivos mais robustos de pior prognóstico a longo prazo para doentes com EM-RR são: a apresentação inicial com sintomas esfinterianos, o intervalo de tempo curto entre 1º e 2º surto, maior frequência de surtos nos 2 primeiros anos e a recuperação incompleta do 1º surto.

Apesar dos estudos acima referidos sugerirem a existência de fatores clínicos iniciais preditivos do prognóstico, o conhecimento atual sugere que após o doente atingir um determinado grau de incapacidade, identificado como valor de 4 na escala de *EDSS*⁴³, a evolução da doença para uma fase progressiva, isto é, com acumulação de incapacidade, será inexorável e deverá corresponder a uma fase em que os processos neurodegenerativos são predominantes e irreversíveis¹⁰. Um estudo recente não encontrou associação entre o número de surtos nos primeiros anos e a data da conversão para EM-SP⁵⁸ suportando o conceito que a EM é uma doença com 2 estadios: uma fase inicial (inflamatória) de duração variável influenciada por variáveis clínicas e uma 2ª fase (degenerativa) com progressão independente do curso inicial ou das características clínicas ou demográficas iniciais^{10; 43; 58}.

A evidência de eficácia dos fármacos modificadores da doença aprovados para tratamento de doentes com SCI e EM-RR tem como suporte ensaios clínicos de curta duração, em que se registou aumento do intervalo de tempo entre o 1º e o 2º surto e a diminuição da atividade subclínica da doença^{59; 60}. O papel da TMD a longo prazo é menos conhecido, havendo contudo estudos que suportam o efeito benéfico destes tratamentos na progressão da doença, nomeadamente no tempo para atingir a fase secundariamente progressiva^{53; 55}. Neste contexto, um estudo recente⁶¹ realizado em doentes tratados precocemente com Interferão beta 1b demonstrou que as características clínicas iniciais, nomeadamente o número de surtos nos primeiros dois anos e a incapacidade inicial (medida pelo *EDSS*), se mantêm como fatores preditivos de incapacidade física final. Estes resultados sugerem que o tratamento precoce com a TMD, que reconhecidamente influencia a primeira fase da doença (fase inflamatória), pode também influenciar a incapacidade a longo prazo, o que está de acordo com a existência de uma “janela de

oportunidade” ou fase da doença na qual a eficácia da intervenção terapêutica na EM é maior ⁶².

1.2. Diagnóstico de EM e curso clínico

Atualmente, o diagnóstico de EM é baseado na história clínica, no exame neurológico e em testes paraclínicos, nomeadamente a RM, os potenciais evocados (PE) visuais e somato-sensitivos e testes laboratoriais (sangue e LCR) ^{19; 63; 64}.

Desde a década de 60 têm sido propostos vários critérios de diagnóstico de EM ^{19; 63-67}, todos eles englobando dois aspetos essenciais: a) a demonstração de duas ou mais lesões no SNC disseminadas no tempo e no espaço; e b) a exclusão de condições que mimetizam uma síndrome clínica, dado não existir um marcador biológico para esta doença. Com o advento da RM, tanto na prática clínica como em ensaios clínicos, são utilizados atualmente os critérios revistos de *McDonald* de 2005 ⁶⁴ que se baseiam no quadro clínico e nas características das lesões demonstradas nos exames de RM. A evolução dos critérios de diagnóstico ao longo dos anos permitiu: a) melhorar a sensibilidade e a especificidade do diagnóstico; b) realizar o diagnóstico mais precoce da doença, com base em critérios de RM que comprovam a disseminação no tempo e no espaço; e c) identificar os indivíduos em maior risco de desenvolver EM, ou seja com SCI. A SCI é definida como a primeira manifestação clínica sugestiva de um evento desmielinizante num indivíduo com características na RM preditivas de conversão para EM clinicamente definitiva, de acordo com os critérios de Poser ^{17; 68-70}.

1.2.1. Fatores Imagiológicos

A RM é o exame paraclínico mais usado na abordagem de um doente com sinais e sintomas compatíveis com doença desmielinizante ^{17; 18}. A RM suporta o diagnóstico de EM em cerca de 95% de doentes com EM clinicamente definitiva e em 50 a 70% dos doentes com SCI são visíveis na RM lesões sugestivas de doença desmielinizante, para além de permitir identificar diagnósticos alternativos (por exemplo: compressão medular em doente com mielopatia parcial subaguda) ¹⁸. As características das lesões na RM inicial (número, localização e aspeto após contraste) constituem fatores preditivos de conversão para EM clinicamente definitiva seja em doentes com a SRI ^{30; 31; 71} seja em doentes com a SCI ^{19; 20; 72}. Já o papel da RM inicial como preditivo de incapacidade física é mais controverso ^{20; 73}.

Para além da importância da RM no diagnóstico, a investigação imagiológica tem sido fundamental para o conhecimento “in vivo” dos processos biopatológicos que ocorrem ao longo da evolução da doença ⁷⁴⁻⁷⁶. A sua utilização na monitorização da doença deve-se à sua elevada sensibilidade em detectar atividade da doença ainda que a correlação entre parâmetros clínicos e imagiológicos seja modesta ^{74; 75}. A discrepância clínico-imagiológica é evidente especialmente nas formas progressivas (EM-PP ou EM-SP) quando apenas são utilizadas sequências de RM convencionais e quantitativas (por exemplo: número de lesões em T1, T2 e lesões captantes de contraste). Apesar desta discrepância ser conhecida, diversos estudos observaram que a carga lesional em RM nos primeiros anos de doença em doentes com EM definitiva tem uma capacidade preditiva moderada, seja ao nível do curso da doença seja ao nível da incapacidade a longo prazo ^{72; 77-80}.

Nos últimos anos, a demonstração de que a atrofia cerebral, tanto na substância branca como cinzenta ⁸¹⁻⁸⁷, pode ocorrer precocemente levou a que se utilizassem parâmetros volumétricos cerebrais (por exemplo: a quantificação da atrofia cerebral) como marcadores de doença ^{4; 5; 75; 82; 88}. A extensão da perda de tecido cerebral, que reflete os processos degenerativos e que é calculada pela atrofia cerebral em RM, relaciona-se melhor com a incapacidade física e cognitiva ^{75; 76; 89} do que as medidas de RM convencionais (por exemplo: a carga lesional em T1 e T2).

Em suma, apesar do valor diagnóstico da RM na EM estar bem estabelecido, a sua utilidade para a monitorização da evolução da doença é menos consensual ⁹⁰. A existência de lesões ativas é um dos marcadores utilizados na prática clínica na avaliação do controlo da doença. No entanto, a sua ausência não significa sempre um controlo efetivo ⁹⁰.

1.3. Etiopatogenia

A etiologia da EM é desconhecida. No entanto, os conhecimentos atuais permitem afirmar que a EM é uma doença de natureza autoimune e específica de órgão, cujos fatores desencadeadores não estão ainda completamente esclarecidos ^{8; 11; 91; 92}. Os mecanismos de autoimunidade, condição definida como perda da tolerância fisiológica ao *self* ⁹³, estão presentes na EM ¹¹. Diversos factos suportam a possível natureza autoimune: a) a existência de modelos animais de EM, nomeadamente a encefalomielite autoimune experimental (EAE), que resulta da auto-sensibilização a antígenos cerebrais em animais susceptíveis ⁹⁴; b) a incidência anormalmente elevada de linfócitos T auto-reativos no soro e LCR de doentes com EM ⁹⁵; c) a associação da EM a determinados polimorfismos genéticos

associados à autoimunidade (por exemplo: alelos HLA da classe I e II, CTL4)⁹⁶⁻⁹⁸; e d) a elevada prevalência de outras doenças autoimunes em doentes com EM e familiares de 1º grau⁹⁹. A importância destes mecanismos na etiopatogenia é posta em evidência pela eficácia dos atuais TMD, sejam estes imunomoduladores (por exemplo: Interferão beta), anticorpos monoclonais ou imunossupressores^{90; 100; 101}

Apesar destas evidências e da vasta investigação nesta área, a resposta à questão sobre se a EM é uma doença de natureza autoimune ou imuno-mediada, isto é, se as reações autoimunes são condições necessárias para o desencadear da doença ou apenas fatores de amplificação dos processos que a desencadeiam é ainda inconclusiva⁹².

A EM é considerada uma doença complexa, na qual fatores genéticos e ambientais contribuem e interagem para o seu aparecimento^{91; 92}. Embora até à data nenhum gene, ou combinação de genes, tenha sido identificado como necessário e suficiente para o desenvolvimento da doença, a descoberta em 1972 da associação entre alelos do sistema *HLA* (*Human Leucocyte Antigens*) e a EM constituiu a primeira evidência direta da contribuição genética para o aparecimento da doença¹⁰². Nas últimas duas décadas, diversos projetos internacionais e de colaboração multicêntrica, permitiram a realização de estudos de associação abrangendo todo o genoma - *Genome-Wide Association Studies* (GWAS) - que confirmaram que a região cromossômica onde se localiza o sistema *HLA* é a única região genética que, de uma forma consistente, está associada à EM¹⁰³. São exemplos, o projeto *GAMES* (Genetic Analysis of Multiple Sclerosis in EuropeanS)¹⁰⁴⁻¹⁰⁷ e o projeto *WMSGC/WTCCC2* (International Multiple Sclerosis Genetics Consortium/Wellcome Trust Case Control Consortium 2)¹⁰³. Os resultados destes estudos corroboram a noção de que os principais fatores genéticos de suscetibilidade à doença são os alelos *HLA* da classe II, nomeadamente o alelo *HLA-DRB1*15:01*, embora outros alelos *HLA* da classe I também tenham sido identificados como fatores independentes de suscetibilidade¹⁰⁸⁻¹¹². Os mecanismos pelos quais estes alelos afetam a suscetibilidade à EM não estão ainda inteiramente esclarecidos⁹⁸.

1.3.1. Fatores ambientais

Um dos aspetos mais investigados nas duas últimas décadas como contribuidor para a etiopatogenia da doença é a influência ambiental^{113; 114}. Assim, é atualmente aceite que o desenvolvimento da EM ocorre em indivíduos geneticamente suscetíveis e expostos a diversos fatores de risco ambientais^{91; 92; 113; 115}. Estudos epidemiológicos têm permitido

identificar vários fatores ambientais associados a um aumento do risco de desenvolver EM, especialmente quando estes acontecem em determinadas etapas da vida ^{92; 114}. Alguns são de natureza estática (por exemplo: o mês de nascimento e a latitude do local de nascimento), enquanto outros são de natureza dinâmica (por exemplo: infecção pelo vírus Epstein-Barr, tabagismo e déficit de vitamina D) ^{92; 113; 114; 116}. Acredita-se por isso que o conhecimento dos fatores de risco ambientais potencialmente modificáveis, como são os fatores dinâmicos, poderá permitir desenvolver estratégias de prevenção de uma doença crónica e atualmente sem tratamento curativo ¹¹⁴.

Tem sido defendido que a heterogeneidade genética das populações e a exposição a determinados fatores ambientais pode explicar a variabilidade da prevalência da EM em diferentes áreas do globo ⁸. A prevalência é elevada na América do Norte e em países do norte da Europa (prevalência > 100/100.000 habitantes) o que contrasta com a baixa prevalência em algumas zonas de África e no Japão ⁸. Em Portugal, à semelhança de outros países do sul da Europa, calcula-se que a prevalência da EM seja de 40-60/100.000 habitantes marcando uma área de prevalência intermédia da doença ¹¹⁷⁻¹¹⁹.

1.3.2. Fatores genéticos

1.3.2.1. Fatores genéticos de suscetibilidade

O Complexo *Major* de Histocompatibilidade (*MHC*), denominado *HLA* no humano, localizado na região 6p21.3, é a região do genoma mais associada à doença e é a que confere maior risco para o seu desenvolvimento ^{120; 121}. Esta região estende-se por 4,5 mega bases e é constituída por mais de 200 genes, muitos dos quais estão relacionados com o desenvolvimento, a maturação e a função do sistema imune ¹²¹. A associação entre EM e genes do sistema *HLA* foi inicialmente descrita para genes da classe I, nomeadamente *HLA-A3* e *HLA-B7* ¹⁰². Posteriormente foram implicados genes da classe II, nomeadamente *HLA-DR2*, hoje denominado *HLA-DRB1*15:01*. Através de estudos genéticos robustos, tais como os estudos *GWAS*, o alelo *HLA-DRB1*15:01* foi identificado como o principal alelo de suscetibilidade à doença. A presença deste alelo explica 25-35% do componente genético da EM. Recentemente, têm sido explorados os efeitos de outros alelos *HLA* nomeadamente o *HLA-A*02:01* como fator protetor, sendo este efeito independente do alelo *HLA-DRB1*15:01* ^{93; 103; 110; 122}.

Genes não-*HLA* foram também identificados como fatores que contribuem para a suscetibilidade, incluindo a) genes imunológicos [tais como genes envolvidos na

diferenciação, expansão ou migração de linfócitos – por exemplo: receptor interleucina 7 (IL7); genes envolvidos no sistema imune inato – por exemplo: gene da tirosina cinase 2 (TYK2); genes que codificam moléculas co-estimuladoras implicadas na interação e adesão celular – por exemplo: *Killer Immunoglobulin-like Receptor (KIR)*; b) genes envolvidos no transporte axonal mitocondrial e percursores de vesículas sinápticas (por exemplo: *Kinesin family member 1B (KIF1B)*] e outros com funções mais gerais ou menos conhecidas [tais como: proteína L5 ribossomal (RPL5)]^{108; 122; 123}. O *Odds Ratio (OR)* [calculado como uma aproximação ao Risco Relativo (RR) e que quantifica diretamente a probabilidade de indivíduos com determinado alelo desenvolver a doença comparando com indivíduos que não possuem esse alelo], pode chegar a 7.0 para genes *HLA* classe II (*HLA-DRB1*15:01*), enquanto que para genes não-*HLA* o *OR* varia apenas entre 1,1 e 1,9^{108; 122; 123}.

Os estudos genéticos têm contribuído para a caracterização das variantes genéticas associadas à doença. No entanto, estas podem não ser necessárias para causar doença mas corresponderem apenas a marcadores da doença. A distinção entre marcador e variante “causadora” da doença depende de estudos funcionais que permitam determinar de que forma estes contribuem para a expressão biológica^{108; 122; 123}. Na EM existem alguns estudos funcionais, em humanos e em modelos animais, que combinados com estudos estruturais das moléculas envolvidas esclarecem o papel de determinados fatores de risco ambientais (por exemplo: infeção com o vírus Epstein-Barr) para a EM¹²⁴. Estes fatores poderão interagir com determinadas moléculas de *HLA*, sendo que o fator ambiental funciona como fator desencadeador de respostas mediadas por linfócitos T¹²⁵.

Os estudos genéticos em populações de doentes portugueses com EM iniciaram-se em 2000 com a participação no projeto *GAMES*. O objetivo principal do *GAMES* era identificar genes de susceptibilidade à EM¹⁰⁴. Dois grupos de investigadores Portugueses colaboraram no projeto, tendo a autora desta tese integrado um destes grupos e publicado as conclusões em co-autoria com os diferentes grupos envolvidos¹⁰⁴⁻¹⁰⁶. Nos anos seguintes e até à data de redação desta tese, a colaboração com o Laboratório de Imunogenética do Instituto Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto (ICBAS-UP), cuja responsável nos anos 70 já havia publicado os primeiros trabalhos de associação *HLA*-EM¹²⁶, permitiu a realização de vários estudos genéticos. A investigação abordou assim diversos genes de susceptibilidade e de possível modulação da doença. Foram explorados genes da resposta imune, incluindo alelos *HLA* e não *HLA*^{97; 110; 127; 128}, genes do metabolismo lipídico (por exemplo: gene da apolipoproteína E) e genes envolvidos em outras funções (por exemplo: gene da hemocromatose envolvido no metabolismo do ferro;

gene CYP27B1 envolvido no metabolismo da vitamina D) ¹²⁹. A investigação realizada por este grupo está sintetizada num artigo de revisão publicado em 2012 ⁹⁷.

1.3.2.2. Fatores genéticos e expressão fenotípica

A contribuição de fatores genéticos para a suscetibilidade à EM é amplamente reconhecida ^{103; 120; 122}. No entanto, o papel destes fatores na expressão fenotípica da doença é ainda controverso ^{92; 103}.

A investigação de fatores genéticos associados à expressão fenotípica da EM tem sido objecto de múltiplos estudos ^{98; 130}. A maior concordância para determinadas características fenotípicas encontradas em estudos de casos familiares, nomeadamente em gémeos monozigóticos vs. dizigóticos, suporta a existência de determinantes genéticos modificadores da doença ^{122; 130; 131}. As características descritas como mais concordantes são: sexo, idade de início, curso e gravidade, sendo esta medida pelo tempo para atingir determinada incapacidade ^{130; 132}.

A pesquisa de determinantes genéticos modificadores da EM tem sido conduzida com recurso a estudos de associação e, à semelhança dos estudos genéticos de suscetibilidade, incluíram genes que medeiam funções essencialmente imunológicas (associados ou não ao *HLA*) e do metabolismo lipídico (por exemplo: gene da apolipoproteína E) e genes envolvidos em outras funções (por exemplo: gene CYP27B1 envolvido no metabolismo da vitamina D) ^{96; 98; 133}.

No âmbito desta tese propusemo-nos a investigar o papel de 2 alelos (o alelo *HLA-DRB1*15:01* e o alelo *ApoEε4*) no desempenho cognitivo de doentes com EM. Foi efetuada uma revisão da literatura e resumo de alguns resultados da investigação genética previamente realizada sobre estes alelos. Alguns destes estudos foram realizados com doentes da população clínica estudada nesta tese.

1.3.2.2.1. Sistema *HLA*

A investigação do papel dos alelos *HLA* classe II na expressão fenotípica da EM tem revelado resultados inconsistentes e até contraditórios ^{96; 134; 135}. Estas inconsistências e contradições podem ser explicadas por diferentes fatores, dos quais se destacam: a) as características das populações (comunitárias vs. hospitalares); b) os critérios de

classificação dos doentes (a definição de graus de gravidade da doença varia nos diferentes estudos, por exemplo alguns autores classificam como formas benignas de EM-RR quando os doentes têm uma incapacidade, medida pela *EDSS* ≤ 3 e uma duração da doença igual ou superior a 10 anos, enquanto que outros autores apenas usam esta designação se o doente tiver pelo menos 20 anos de doença^{29; 37; 49; 136; 137}); e c) o tamanho das amostras (o número de doentes incluídos nos estudos varia entre 28 a 2201 indivíduos)^{96; 130}. Estas limitações dos estudos genéticos de associação na EM são amplamente reconhecidas e são semelhantes às que se verificam noutras doenças neurológicas crónicas¹³⁸.

O estudo recente com maior poder estatístico que explorou o efeito dos genes *HLA* na correlação fenótipo-genótipo na EM resultou de uma investigação internacional¹⁰³, onde foi encontrada uma relação entre a idade de início da doença e o alelo *HLA-DRB1*15:01*, sendo que cada cópia do alelo diminui em 10,6 meses a idade de início da doença. Neste estudo foram também investigados outros alelos, *HLA* e não *HLA*, e a sua relação com as variáveis sexo, mês de nascimento, curso de doença e severidade. Não foram encontradas associações significativas com estas variáveis demográficas e clínicas¹⁰³.

Numa amostra de 248 doentes portugueses com EM seguidos na Consulta de Neuroimunologia do Centro Hospitalar do Porto/Hospital de Santo António (CHP-HSA), parte da população estudada nesta tese, foi explorado o efeito do alelo *HLA-DRB1*15:01* na expressão fenotípica da EM e verificou-se que os doentes *HLA-DRB1*15:01* positivos demoravam mais tempo a atingir determinados valores de incapacidade (*EDSS*=3 ou *EDSS*=6) do que os doentes que não possuíam este alelo. Concluiu-se, então, que neste grupo de doentes portugueses, o alelo *HLA-DRB1*15:01*, para além de ser um marcador genético de suscetibilidade à EM, está também associado a melhor prognóstico da doença¹²⁷. Esta observação está de acordo com estudos realizados noutras populações^{80; 139; 140}. No entanto, outros investigadores não encontraram qualquer associação ou descreveram resultados que apontam em sentido contrário⁹⁶.

O papel de determinados alelos *HLA* na modulação da expressão da doença tem sido investigado usando não apenas parâmetros clínicos (por exemplo: *EDSS*) mas também critérios imagiológicos que traduzem inflamação e neurodegeneração¹⁴¹⁻¹⁴³ tendo sido encontradas algumas associações entre determinados alelos *HLA* e maior gravidade imagiológica.

Em resumo, os dados da literatura sugerem que o fenótipo clínico na EM se relaciona de forma modesta com o principal fator genético de suscetibilidade à doença. A maioria dos autores defende que a investigação do papel de fatores genéticos

(nomeadamente o alelo *HLA-DRB1*15:01*) na evolução da doença ou na expressão fenotípica nas suas diversas vertentes deve envolver a recolha de dados clínicos e paraclínicos de forma longitudinal e em grandes grupos de doentes^{96; 98; 123; 143}.

1.3.2.2.2. Apolipoproteína E (*APOE*)

O gene da *APOE* está localizado na região 19q13, uma região já descrita como associada à EM¹²². O gene da *APOE* é polimórfico com três alelos comuns $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$ produzindo três isoformas da proteína designadas E2, E3 e E4. No SNC, a *APOE* é sintetizada pelas células gliais, principalmente astrócitos. Serve como ligando mediando a captação de lipoproteínas plasmáticas que são vitais para a reparação das membranas e pode ter efeitos neurotróficos, antioxidantes bem como imunomodulatórios¹⁴⁴. As suas propriedades imunológicas incluem modulação da inflamação e da oxidação, supressão da proliferação de células T, regulação das funções dos macrófagos e facilitação de apresentação de antígenos lipídicos por moléculas CD1 a células T *natural killer*¹⁴⁵. Como a reparação do tecido nervoso e a imunomodulação são essenciais para o restabelecimento da função do SNC após os surtos de EM, o genótipo *APOE* poderá de alguma maneira influenciar a evolução clínica da doença.

Os estudos sobre o papel dos polimorfismos do gene *APOE* na suscetibilidade à EM têm sido negativos, incluindo os realizados em populações de doentes Portugueses^{97; 146-148}. Em geral, o papel do efeito destes alelos na evolução ou modulação da doença têm apresentado resultados contraditórios^{92; 130; 148; 149}.

Apesar de vários autores¹⁴⁷⁻¹⁴⁹ terem encontrado associações entre o alelo *ApoE* $\epsilon 4$ e características clínicas da EM (curso e gravidade neurológica medida pelo *EDSS*), uma meta-análise¹⁴⁸ concluiu que a maioria destes estudos não foram replicados e por isso o conhecimento atual sugere que os genes da *APOE* parecem não ter um efeito significativo no prognóstico da doença. A investigação do efeito dos polimorfismos do alelo *ApoE* $\epsilon 4$ em aspetos clínicos particulares, tais como funcionamento cognitivo e alterações do afeto/psicopatologia serão abordados na secção 1.4.6.1.2.

O efeito dos polimorfismos do gene *APOE* em medidas imagiológicas foi também objeto de investigação tendo sido o alelo *ApoE* $\epsilon 4$ reportado como associado a uma maior carga lesional em T1¹⁴⁹⁻¹⁵¹, maior atrofia cerebral^{151; 152} e maior lesão axonal¹⁵³ o que sugere que a lesão tecidual seja mais grave nos doentes com o alelo *ApoE* $\epsilon 4$. Há contudo vários trabalhos¹⁵⁴⁻¹⁵⁷, um dos quais com um elevado número de doentes¹⁵⁵, onde não foi encontrado qualquer associação.

1.4. Funcionamento cognitivo na EM

A palavra cognição, em latim *cognitione*, já utilizada nos escritos de Platão e Aristóteles, traduz o ato de adquirir um conhecimento ou a faculdade de conhecer. A cognição envolve um conjunto de processos nomeadamente atenção, percepção, memória, linguagem e raciocínio. A maioria das atividades humanas resulta assim da interação entre processos cognitivos e outras funções cerebrais.

Nas últimas décadas do séc. XX assistiu-se a um importante avanço na compreensão neural dos processos cognitivos. A investigação nas neurociências com o advento de técnicas funcionais, seja imagiológicas [por exemplo: RM funcional, *Diffusion Tension Imaging* (DTI)] ou neurofisiológicas [por exemplo: potenciais evocados; estudos sincronização/dessincronização], contribuíram para aprofundar o conhecimento dos mecanismos e mapas neuronais implicados num determinado processo cognitivo e as suas alterações em resposta a estímulos externos ou internos ^{158; 159}.

A substância branca cerebral é a estrutura do SNC mais afetada na doença, é rica em mielina e constitui na espécie humana cerca de 50% do cérebro ¹⁵⁹. A mielina é uma substância que apenas existe nos vertebrados, sendo a mielinização um processo de desenvolvimento que, nos humanos, pode ocorrer até à 3ª década de vida ^{159; 160}. O longo período de mielinização da nossa espécie, ao contrário do que ocorre em outras espécies de vertebrados, coincide com o período em que o córtex humano desenvolve de forma massiva conexões sinápticas, que constituem a plasticidade cerebral com base na experiência ¹⁶⁰. O papel da mielina na função sináptica e na cognição, seja em sujeitos normais ou em doentes neurológicos e psiquiátricos, tem sido objecto de numerosos estudos ^{160; 161}. Estudos genéticos (por exemplo: expressão anormal de 35 genes envolvidos na mielinização em doentes esquizofrénicos) ¹⁶²; estudos *post-mortem* (por exemplo: anomalias no corpo caloso, comissura anterior, fórnix e diminuição do número de oligodendrócitos em cérebros de doentes esquizofrénicos); e estudos de imagem cerebral (por exemplo: alterações na estrutura da substância branca cerebral em estudos de espectroscopia, RM funcional e anisotropia em doentes com esquizofrenia) permitiram demonstrar o envolvimento da substância branca em patologias psiquiátricas, tais como a esquizofrenia, a depressão e a doença obsessivo-compulsiva ¹⁶⁰.

Os primeiros estudos que exploram as manifestações neuropsiquiátricas em doentes com EM surgiram nas últimas décadas do século XX ¹⁶³. Desde então esta tem sido uma das áreas de renovado interesse na EM ^{3; 164; 165}. O funcionamento cognitivo e

comportamental é atualmente considerado um elemento fundamental na avaliação do doente ¹⁶⁴⁻¹⁶⁷. Os avanços nos procedimentos psicométricos e o desenvolvimento de técnicas de neuroimagem permitiram a caracterização quantitativa dos processos cognitivos e a sua eventual correlação anatômica, tendo sido estes instrumentos fundamentais para o conhecimento sobre a frequência e a gravidade dos domínios cognitivos predominantemente afetados ^{3; 76; 168}.

A avaliação clínica do funcionamento cognitivo na EM é hoje reconhecida como importante, dado que a disfunção cognitiva tem impacto significativo na qualidade de vida dos doentes ¹⁶⁹⁻¹⁷¹ e está fortemente relacionada com a capacidade de trabalho, independência social e adequado desempenho nas atividades de vida diárias ^{170; 172-177}.

1.4.1 Prevalência da disfunção cognitiva

Desde a década de 90, vários estudos comparativos entre populações de doentes e populações de saudáveis demonstraram que os doentes com EM têm uma elevada prevalência de défices cognitivos ^{174; 178-190}, chegando a atingir 65% ¹⁹¹. No entanto, a prevalência encontrada varia entre 21% e 65% ^{186; 187; 190-193}. Esta variabilidade pode ser explicada pelas diferenças entre as populações estudadas e/ou as metodologias aplicadas (testes psicométricos e definição de défice) ^{189; 194-197}.

Populações estudadas

Os estudos realizados em amostras “comunitárias” (*community-based sample*) publicados na década de 90 ^{179; 198} chegaram a valores de prevalência de disfunção cognitiva mais baixos comparativamente a estudos realizados em amostras hospitalares (*clinical-samples*) ^{179; 189; 193; 194}. As diferenças nas características das populações de doentes podem ser uma explicação para esta diversidade de resultados. Na altura, os doentes seguidos em centros clínicos universitários tinham habitualmente maior atividade de doença e maior grau de incapacidade ^{179; 193}, enquanto que doentes com doença relativamente “benigna” muitas vezes não tinham seguimento regular nos centros hospitalares. No entanto, nas duas últimas décadas, as características dos doentes seguidos nos centros hospitalares tem-se modificado, abrangendo atualmente doentes em todas as fases de gravidade da doença. A maior acessibilidade aos exames de imagem (RM), que permitem o diagnóstico da EM em fases cada vez mais precoces da doença, e o aparecimento de

fármacos modificadores do curso da doença com evidência de maior eficácia na fase precoce da doença^{18; 199} são fatores que têm contribuído para que os doentes com EM sejam seguidos e tratados desde a fase inicial e ao longo de toda a evolução da doença em hospitais mais especializados. Para além das características dos doentes, uma outra explicação para a maior prevalência de disfunção cognitiva nos doentes seguidos em centros universitários pode resultar da utilização de baterias de testes neuropsicológicos (NP) descritos como mais sensíveis e mais específicos para detetar esta disfunção¹⁹⁴.

Para além das diferenças da origem destas populações (comunitárias *versus* hospitalares), alguns estudos avaliaram também grupos de doentes com características clínicas específicas para controlar ou reduzir as diferenças resultantes de fatores como a duração da doença, o curso de doença, entre outros. Nos estudos de cognição em populações de EM em fases precoces de doença ("*early MS*") os resultados são contudo diversos e mesmo discrepantes. Alguns investigadores descrevem desempenhos semelhantes nos doentes e nos controlos em grande parte dos testes NP²⁰⁰, enquanto outros estudos descrevem uma prevalência de défice cognitivo superior nos doentes podendo atingir 53,7%¹⁹⁶. Estas diferenças resultam da definição de fase precoce de doença não ser equivalente nas diversas populações de EM estudadas. Em alguns estudos são incluídos doentes com SCI e apenas meses de doença²⁰¹⁻²⁰⁴, enquanto noutros se incluem doentes com duração de doença até 5 anos^{200; 205}.

A disfunção cognitiva pode ocorrer em fases precoces de doença, tendo sido demonstrada em doentes com a SRI e a SCI^{201-203; 206; 207} e, em pelo menos um estudo, a presença de disfunção cognitiva inicial em doentes com SCI foi destacada como fator preditivo de conversão precoce para EM²⁰⁸. Apesar de estar bem estabelecido e documentado que os doentes com SCI têm elevado risco de desenvolver EM definitiva¹⁷, a inclusão destes doentes em estudos de investigação de doentes com EM é questionável, uma vez que existem estudos descrevendo que, no final, uma parcela destes doentes não apresenta novos eventos clínicos e/ou novas lesões ao longo de décadas^{209; 210}. Estes achados sugerem que uma parte dos doentes com SCI incluídos nos estudos podem não vir a desenvolver critérios de uma doença crónica como a EM e portanto corresponder a doentes com uma síndrome desmielinizante monofásica, muito diferente em evolução e prognóstico da EM-RR^{209; 210}. Pelos motivos acima referidos, no âmbito desta tese foram apenas estudados doentes com diagnóstico de EM de acordo com critérios McDonald 2005⁶⁴ não tendo sido incluídos doentes com SCI.

Em síntese, nas últimas décadas a maior facilidade de acesso aos meios imagiológicos e o avanço nos critérios de diagnóstico de EM permitiu o diagnóstico e tratamento cada vez mais precoce da doença. Assim, a população de doentes seguidos nas clínicas hospitalares universitárias é atualmente mais diversa do que em estudos mais antigos, o que poderá explicar em parte as diferenças de prevalência de disfunção cognitiva na EM encontrada nos diferentes estudos^{190; 196}.

1.4.2. Metodologias de estudo de funcionamento cognitivo

As diferenças na definição de déficit cognitivo e a variabilidade de baterias neuropsicológicas utilizadas são fatores que certamente influenciaram os resultados da prevalência de disfunção cognitiva nesta doença^{196; 211}.

O funcionamento cognitivo global é o resultado interativo e harmonioso de um conjunto de funções sendo por isso difícil definir o termo déficit cognitivo. Para documentar a existência de disfunção cognitiva nestes doentes, diversas abordagens têm sido usadas¹⁹⁶:

- a) abordagem do “tudo ou nada” – refere-se à existência ou ausência de déficit em qualquer medida cognitiva; déficit num teste cognitivo é definido como desempenho inferior a um determinado ponto de corte (por exemplo: percentil 5 da população normativa). Esta abordagem tem sido utilizada em estudos do funcionamento cognitivo na EM, tanto em estudos transversais como longitudinais^{174; 177; 178; 181; 212}.
- b) abordagem “categorial” – baseia-se em categorias de domínios cognitivos mais afetados. Neste tipo de análise considera-se que existe déficit quando mais do que um teste está alterado num determinado domínio. Esta abordagem facilita a identificação de grupos de doentes com funcionamento cognitivo semelhante e permite relacionar o funcionamento cognitivo com características clínicas, incluindo a resposta a determinadas intervenções ou fármacos²¹³.
- c) identificação de déficit cognitivo em indivíduo suspeito de ter uma síndrome demencial - baseia-se na identificação de déficit cognitivo ligeiro, definido inicialmente por Petersen^{214; 215}, como a presença de déficit mnésico traduzido por queixas de memória e dificuldades superiores ao esperado para a idade em provas de memória, sem interferência nas atividades de vida diária e com funcionamento cognitivo globalmente preservado. Esta síndrome é atualmente

reconhecida como uma entidade nosológica heterogênea, quer ao nível clínico, quer ao nível do substrato anatómico e está descrita em diversas doenças²¹⁶⁻²¹⁹. A aplicação deste conceito ao estudo do funcionamento cognitivo na EM não é ainda consensual.

1.4.3. Avaliação neuropsicológica (NP)

A avaliação NP tem como principal objetivo a caracterização quantitativa e qualitativa do funcionamento cognitivo. Esta avaliação pode ser usada em indivíduos saudáveis e em indivíduos com suspeita de défice cognitivo ou deterioração cognitiva. A identificação de défice cognitivo na prática clínica constitui uma etapa essencial: a) no diagnóstico de algumas doenças degenerativas que cursam com deterioração cognitiva (por exemplo: a Demência de Alzheimer (DA), a Demência Fronto-Temporal, entre outras); b) no diagnóstico diferencial entre deterioração cognitiva e dificuldades cognitivas no contexto de patologias psiquiátricas, incluindo síndrome depressiva; e por último c) na avaliação da resposta a uma terapêutica, seja farmacológica, comportamental ou cirúrgica²¹⁸⁻²²⁰

Os testes NP permitem a avaliação estandardizada de diferentes domínios cognitivos, tais como: velocidade de processamento psicomotor, atenção, linguagem, exploração visuo-espacial, memória e funções executivas. A avaliação neuropsicológica pode também medir outros parâmetros, tais como inteligência e índices psicopatológicos e/ou de personalidade²²¹.

Baterias NP na EM

A eficiência dos testes de rastreio de défice cognitivo em doentes com EM tem sido, nos últimos anos, um dos tópicos de interesse na investigação desta doença^{3; 194; 221}. O conhecimento do impacto da disfunção cognitiva em diversos contextos, tais como: desempenho profissional, comportamento e relações sociais, tomadas de decisão legais e financeiras, adesão aos tratamentos e adaptação à incapacidade levou ao reconhecimento da importância de deteção precoce da disfunção cognitiva^{165; 194; 211}.

Apesar de ser reconhecida a importância da disfunção cognitiva, de um modo geral e na prática clínica, a avaliação NP não faz parte da rotina da avaliação destes doentes^{164; 211}. As principais razões desta falha são: a) o défice neuropsicológico não faz parte do diagnóstico de EM sendo mesmo considerado sinal de alerta para o clínico quando surge

precocemente ou como manifestação predominante ¹⁵; b) atualmente a presença ou agravamento da disfunção cognitiva não é considerada na avaliação de resposta ao tratamento ⁹⁰; c) a escassez de clínicos ou neuropsicólogos treinados nos centros que tratam doentes com EM ¹⁶⁴; e d) o elevado tempo de aplicação dos procedimentos psicométricos ²²².

Desde 1990, alguns grupos de investigadores dedicados ao estudo deste problema desenvolveram baterias NP para avaliar estes doentes ^{223; 224}. Estas baterias foram desenhadas com objetivo de detetar precocemente défice cognitivo em áreas consideradas como mais vulneráveis na EM, isto é, para terem elevada sensibilidade para disfunção cognitiva. Assim, as baterias NP mais utilizadas neste tipo de investigação são a *Rao Brief Repeatable Neuropsychological Battery (BRNB)* desenvolvida em 1990 ²²⁵ e a *Minimal Assessment of Cognitive Function In MS (MACFIMS)* proposta em 2002 ^{222; 226}. Ambas englobam um conjunto de testes NP, que têm um tempo de aplicação médio a longo (aproximadamente 45 minutos para a *BRNB*; aproximadamente 90 minutos para a *MACFIMS*). De acordo com a literatura, estas 2 baterias NP apresentam elevada e idêntica sensibilidade na deteção de disfunção cognitiva ^{224; 226}. No entanto, existem alguns fatores que limitam a sua utilização regular na prática clínica, nomeadamente: a) efeitos relacionados com a repetição dos testes em avaliações periódicas (o “efeito da prática” mesmo com a utilização de versões diferentes do mesmo teste é problemático); b) necessidade de uma equipa de neuropsicólogos treinados, sendo por isso apenas possível a sua realização em centros especializados; c) o tempo de duração da avaliação limita a sua realização regular; e d) os testes precisam ser traduzidos, adaptados e validados para populações de diferentes países e culturas ^{221; 226}.

No sentido de se ultrapassarem algumas destas limitações, nos últimos anos, tem sido defendido por vários autores a utilização de baterias NP mais simples e de menor duração, tais como a *Brief International Cognitive Assessment for Multiple Sclerosis (BICAMS)* ^{221; 227}. A *BICAMS* engloba apenas 3 testes NP (*Symbol Digit Modalities Test - SDMT*; *The California Verbal Learning Test-II – CVLT* e *The Brief Visuospatial Memory Test*) de fácil aplicação, sensíveis à disfunção na EM e com tempo total de aplicação de aproximadamente 15 minutos ²²⁷. A principal vantagem da *BICAMS* seria a possibilidade da sua aplicação como teste de rotina à semelhança do *EDSS* e *Nine-Hole Peg Test (9HPT)* ^{221; 227}. No entanto, esta bateria tem alguns problemas relacionados com a inclusão apenas de medidas de velocidade psicomotora e de memória (visual e verbal) não podendo assim substituir uma avaliação NP mais abrangente na determinação de incapacidade, no

aconselhamento e na reabilitação neuropsicológica^{3; 211; 227}. Os testes de memória incluídos nesta bateria são também vulneráveis aos efeitos da prática repetida²²⁸.

1.4.4. Fenótipo da disfunção cognitiva na EM

De acordo com a maioria dos estudos, as funções cognitivas mais vulneráveis à disfunção na EM são a velocidade de processamento psicomotor, a memória, as funções visuo-espaciais e as funções executivas^{165; 166; 194; 229}. As capacidades linguísticas e de atenção focalizada aparentam estar relativamente menos afetadas^{179; 194}.

Velocidade de processamento psicomotor e atenção

Atualmente, é consensual que a diminuição da velocidade de processamento psicomotor é uma das características salientes da disfunção cognitiva na EM^{194; 229}. A dificuldade em realizar tarefas complexas que implicam processamento rápido ocorre em 20% a 50% dos doentes¹⁹⁴. Os testes que exploram velocidade de processamento em tarefas visuais (por exemplo: *SDMT*) podem ter maior sensibilidade do que tarefas auditivas (por exemplo: *Paced Auditory Serial Addition Test – PASAT*^{230; 231}). No entanto, estas diferenças podem resultar não apenas de dificuldades de velocidade psicomotora mas também de concomitantes défices visuais primários. O *PASAT* utiliza estímulos auditivos o que poderá ser uma vantagem uma vez que défices auditivos significativos são raros nesta patologia^{166; 194; 232}. Apesar destes aspetos positivos, o *PASAT* é considerado um teste de difícil aplicação na prática clínica³. Nos últimos anos alguns estudos demonstraram que a versão oral do *SDMT*, tem algumas vantagens relativamente ao *PASAT*, por ser um teste mais simples, ter maior sensibilidade e ser menos permeável ao efeito da “prática”^{231; 233-235}. O *SDMT*, versão oral, é um dos testes incluídos na *BICAMS*^{221; 227; 234}.

As alterações na velocidade de processamento psicomotor podem afetar a capacidade de manutenção e manipulação da informação, isto é, podem diminuir a capacidade de atenção e de memória de trabalho²³⁶. No entanto, os testes de atenção focalizada (por exemplo: memória de dígitos, teste de Corsi) estão geralmente pouco alterados^{177; 200}, embora existam alguns estudos que documentam défice nestes testes^{237;}

²³⁸.

Memória e aprendizagem

A memória, definida como um conjunto de processos mentais que permitem o armazenamento de novas informações e a sua recuperação, é um dos domínios cognitivos mais vulneráveis à disfunção na EM ¹⁹⁴. A prevalência dos défices de memória varia de estudo para estudo podendo afetar até 65% dos doentes ^{166; 239}. Os aspetos mais atingidos são os processos de aprendizagem e retenção a longo prazo, sendo menos afetadas a memória semântica e a memória a curto prazo ^{166; 194; 240; 241}.

A natureza dos défices de memória na EM não está ainda completamente esclarecida ²⁴². O mecanismo primário dos défices de memória a longo prazo foi durante anos atribuído a um atingimento do processo de recuperação da informação ^{240; 243; 244}, atualmente é aceite que existem também compromissos nos processos de aquisição e de codificação ^{241; 242; 245; 246}.

Alguns estudos encontraram relação entre atrofia focal, nomeadamente frontal e temporal, e défices em testes de memória visual episódica e de trabalho ^{188; 247; 248}. Mais recentemente têm sido encontradas relações entre desempenho em testes que avaliam memória de trabalho e a conectividade neuronal em doentes com EM ^{249; 250}.

A maioria dos estudos de memória utilizaram instrumentos com estímulos primários visuais (por exemplo: *Brief Visuospatial Memory Test*) ou auditivos (por exemplo: *Auditory Verbal Learning Test*), sendo escassos os que usaram estímulos com outra modalidade sensitiva nomeadamente estímulos olfativos.

Olfato

O olfato é uma modalidade sensitiva primária, cuja informação se processa no córtex olfativo, região com conexões estreitas ao sistema límbico, nomeadamente amígdala e hipocampo ²⁵¹. A disfunção olfativa está bem documentada em doenças neurodegenerativas, tais como a D. Parkinson e a D. Alzheimer ²⁵²⁻²⁵⁴. Nos últimos anos, vários estudos sugerem a existência desta disfunção em doenças autoimunes com envolvimento do SNC, tais como o Lupus Eritematoso Disseminado ²⁵⁵⁻²⁵⁷ e a Esclerose Múltipla ²⁵⁸⁻²⁶⁰. A diminuição da capacidade olfativa foi encontrada em algumas populações de doentes com EM ²⁵⁹⁻²⁶³. Foi também descrita uma relação entre disfunção olfativa e incapacidade ^{259; 260; 264} e entre disfunção olfativa e carga lesional, calculada por RM, em

regiões cerebrais relacionadas com o olfato, tais como a região basal dos lobos frontais e temporais^{260; 261}.

Funções executivas

As funções executivas, nomeadamente o pensamento abstrato, a resolução de problemas, a fluência verbal e a planificação de ações, estão comprometidas em 15% a 25% dos doentes^{179; 194; 265-267}. Este atingimento afeta a capacidade dos doentes lidarem com situações de *stress (coping)* e está associado a dificuldades sociais e profissionais^{175; 268-270}. Os défices executivos são frequentes na EM um pouco à semelhança do que acontece nas demências subcorticais^{244; 271; 272} e associam-se frequentemente a alterações emocionais e/ou de personalidade^{271; 273}. Diversos estudos imagiológicos encontraram uma relação entre défices executivos e patologia frontal medida por parâmetros imagiológicos quantitativos (por exemplo: carga lesional, difusão e espectroscopia)^{267; 274; 275}. Em alguns estudos foi documentada uma relação significativa entre atrofia anterior do corpo caloso e défices de fluência verbal^{276; 277}.

Linguagem

Em comparação com outros domínios cognitivos, as capacidades linguísticas estão habitualmente menos atingidas^{165; 194}. As afasias são raras podendo ocorrer em duas situações: a) no contexto de um surto da doença acompanhado de lesões de grandes dimensões, bem visíveis na RM, ditas “pseudotumorais”²⁷⁸⁻²⁸², ou b) em doentes com apresentações atípicas denominadas por alguns autores como “variante cortical de EM”²⁸¹⁻²⁸⁵. Apesar das alterações de linguagem serem raras, é frequente os doentes terem alterações em testes de fluência verbal, podendo estes traduzir défices executivos, de velocidade de processamento ou de linguagem.

Nas formas progressivas as dificuldades de expressão oral relacionam-se frequentemente com dificuldades de coordenação motora, isto é com disartria, relativamente comum na EM^{286; 287}. A disartria implica a diminuição da produção rápida de informação verbal, o que pode afetar negativamente o desempenho em testes de fluência verbal²⁸⁸⁻²⁹⁰.

Funções visuo-espaciais

Podem ocorrer também défices visuo-espaciais ou visuo-construtivos, no entanto a sua natureza e gravidade não são ainda bem conhecidos ^{163; 291}. A elevada frequência de alterações visuais primárias, relacionadas com sequelas de nevrite ótica e de défices motores que perturbam a destreza manual tornam difícil a interpretação dos resultados quando se exploram estas áreas cognitivas ^{272; 291}.

1.4.5. Natureza do défice cognitivo

A natureza do défice cognitivo na EM não está ainda completamente esclarecida, tendo sido postuladas causas primárias e secundárias ¹⁶⁶. A hipótese de uma causalidade primária, ou seja diretamente resultante das lesões neuropatológicas, é suportada pela consistente associação entre alterações imagiológicas e disfunção cognitiva ^{197; 292}. Uma possível causalidade secundária (por exemplo: a depressão, fadiga) também tem sido explorada, mas com resultados controversos. O que não quer dizer que estes fatores não possam explicar, pelo menos em parte, alguma flutuação do desempenho cognitivo ¹⁶⁶.

A RM é atualmente, o teste paraclínico mais importante na investigação *in vivo* da fisiopatologia da EM e na monitorização da sua evolução ^{76; 293}. O uso de múltiplas técnicas imagiológicas [por exemplo: T1, T2, Densidade Protónica (DP), *Fluid-attenuated inversion recovery (FLAIR)*, *Diffusion Tensor Imaging (DTI)*, Espectroscopia e RM funcional] tem contribuído para os avanços na compreensão dos mecanismos responsáveis pelos défices cognitivos ⁷⁶. Alguns investigadores conseguiram relacionar lesões da substância branca e défice cognitivo ^{163; 294-296}. No entanto, o conhecimento atual sugere que o papel destas lesões é limitado ⁷⁶. Paralelamente foi encontrada em alguns estudos uma associação entre lesões na substância cinzenta, nomeadamente lesões corticais, talâmicas, perda de volume no hipocampo e em regiões neocorticais e o funcionamento cognitivo ^{4; 248; 297-299}.

Os estudos que exploram a relação entre neuroimagem e funcionamento cognitivo em doentes com EM permitiram documentar alguns aspetos:

a) Relações entre lesão em determinada via neuronal e défices cognitivos específicos ^{168; 250; 300}. Citemos, como exemplo, a relação entre lesão do *fasciculus uncinatus* e o desempenho em testes de memória ²⁵⁰;

b) A existência de padrões de ativação cortical durante a realização de uma tarefa cognitiva sugestivos de mecanismos compensatórios ^{249; 301; 302}. A correlação inversa encontrada entre os histogramas relacionados com ativação da substância cinzenta e valor

médio da *Normal-Appearing White Matter (NAWM)* e o desempenho no *PASAT*³⁰¹, constitui um exemplo deste fenómeno;

c) O tratamento farmacológico da disfunção cognitiva está associado a alterações adaptativas funcionais³⁰³⁻³⁰⁵. A administração aguda de rivastigmina imediatamente antes da realização do teste de *Stroop*, permitiu mostrar que nos doentes com EM existem mais áreas do córtex frontal medial recrutadas durante a tarefa comparativamente a sujeitos normais, o que sugere a existência de plasticidade funcional modulada por agonistas colinérgicos³⁰⁵.

Em síntese, as observações conhecidas até à data permitem concluir que a disfunção cognitiva na EM se deve a uma “síndrome de desconexão múltipla”, para a qual contribuem lesões na substância branca, na substância cinzenta profunda e córtex^{271; 296; 306}. Esta disfunção não é apenas resultado da destruição ou lesão, mas sim do balanço entre lesão, reparação e reorganização funcional adaptativa^{197; 307; 308}.

1.4.6. Relação entre funcionamento cognitivo e características genéticas, demográficas, clínicas e imagiológicas

1.4.6.1. Características genéticas

1.4.6.1.1. Antígenos do sistema *HLA*

A investigação do possível impacto que os alelos *HLA* possam ter na disfunção cognitiva é incipiente. Em geral os estudos existentes limitaram-se a avaliar um único domínio cognitivo e os resultados são contraditórios^{134; 135}. Num estudo envolvendo 505 doentes, o alelo *DRB1*15:01* foi associado a gravidade de disfunção cognitiva (medida pelo pior desempenho no *PASAT*) e a gravidade imagiológica (medida por maior carga lesional em T2 e maior redução das concentrações de N-Acetil-Aspartato na espectroscopia)¹³⁴. Uma outra investigação com 978 doentes¹⁵⁵ não reproduziu estes resultados pois não foi encontrada qualquer associação entre o mesmo alelo e a gravidade de doença, a atrofia cerebral e a cognição, esta última medida pelo desempenho no *SDMT*.

Num total de 248 doentes com EM seguidos na Consulta de Neuroimunologia do CHP-HSA o nosso grupo encontrou uma associação significativa entre o alelo *HLA-DRB1*15:01* e uma menor incapacidade física¹²⁷. Nesta amostra de doentes portugueses a

possível relação do alelo *HLA-DRB1*15:01* com o funcionamento cognitivo é ainda desconhecida, sendo por isso uma das questões a que tentaremos responder nesta tese.

1.4.6.1.2. Alelo *ApoE* ϵ 4

O eventual papel do alelo *ApoE* ϵ 4 na gravidade do déficit cognitivo em doentes com EM não está ainda esclarecido. Alguns autores³⁰⁹⁻³¹¹ encontraram uma associação entre o alelo *ApoE* ϵ 4 e pior desempenho cognitivo, enquanto outros não confirmaram esses resultados^{155; 312-314}. Apenas um estudo encontrou uma associação significativa entre este alelo e maior déficit cognitivo³¹⁵. Estas discrepâncias podem estar relacionadas com limitações metodológicas, tais como o número de sujeitos testados ou com os testes NP aplicados^{314; 316; 317}. Só é conhecido um estudo que se debruçou sobre o efeito do gene da APOE nas alterações do humor nos doentes com EM e que sugere um papel protetor do alelo *ApoE* ϵ 2 relativamente aos sintomas depressivos³¹⁸.

1.4.6.2. Características demográficas e clínicas

A relação entre disfunção cognitiva e determinadas características demográficas e clínicas, nomeadamente curso de doença, duração e incapacidade neurológica, ainda não está completamente compreendida^{165; 193}. Como já referimos, a importância de fatores como a depressão e a fadiga no desempenho cognitivo é ainda pouco clara^{194; 319}.

1.4.6.2.1. Características demográficas

O sexo masculino^{311; 320-323} e o menor número de anos de escolaridade^{311; 323; 324} estão associados a pior funcionamento cognitivo em alguns estudos. Existem contudo estudos que não encontraram estas diferenças^{61; 178; 186}, podendo estes resultados negativos estar relacionados com a pequena amplitude da escolaridade e idade dos doentes.

1.4.6.2.2. Características clínicas

Curso de doença

A disfunção cognitiva pode ocorrer em qualquer dos cursos clínicos e em todas as fases de progressão da EM, desde o SCI até fases mais tardias^{177; 202; 203; 206; 325-327}. A

maioria dos estudos aponta para uma disfunção mais acentuada nas formas progressivas da doença, sendo mais severa na EM-SP seguida pela EM-PP e menos severa na EM-RR^{180; 266; 328-333}. A demonstração de diferenças no perfil cognitivo de acordo com o curso de doença é mais controversa. Alguns trabalhos encontraram diferenças entre doentes com EM-PP comparativamente com EM-RR e EM-SP^{328; 330; 332-334}, outros não corroboraram tais achados^{180; 203; 335; 336}.

Duração da doença

A duração da doença foi identificada como um fator importante no aparecimento de défices cognitivos^{174; 180; 182; 198; 246}. Existem outros estudos onde tal associação não se confirmou^{179; 337-340}. Apesar desta discrepância, estudos recentes com grande número de doentes¹⁹⁰, e estudos longitudinais de maior duração^{174; 177}, confirmam que a prevalência da disfunção cognitiva aumenta ao longo do tempo.

Os défices neuropsicológicos (cognitivos e/ou psiquiátricos) podem ocasionalmente ocorrer como apresentação inicial e/ou serem predominantes^{283-285; 341-343}. Quando predominantes, os distúrbios comportamentais e os défices cognitivos consistentes com disfunção cortical representam, de acordo com alguns autores, uma “variante cortical” de EM^{284; 285}. As características demográficas são semelhantes aos casos típicos, sendo o diagnóstico de EM “variante cortical” baseado na combinação de sintomas neurocomportamentais (alterações do humor, amnésia, outros défices cognitivos e/ou psiquiátricos) e características imagiológicas e laboratoriais adequadas^{284; 285}.

O declínio cognitivo ao longo do tempo está documentado em estudos longitudinais, de 3 a 10 anos^{83; 174; 178; 188; 344; 345}. Alguns deles revelaram uma relativa estabilidade cognitiva durante períodos de 2 a 4 anos^{184; 193; 346; 347}.

Incapacidade Neurológica

Atualmente, a relação entre disfunção cognitiva e incapacidade neurológica, medida pelo EDSS também não é consensual. Enquanto alguns investigadores documentaram uma correlação positiva^{174; 179; 180; 187; 246; 266; 345; 346; 348; 349}, outros não encontraram qualquer relação^{83; 163; 188; 331; 338; 339; 346; 350}. Uma das possíveis explicações para os resultados negativos relaciona-se com a heterogeneidade das populações estudadas seja em número de doentes, duração de doença^{174; 177} ou curso da EM. A interferência da duração da

doença na relação entre *EDSS* e funcionamento cognitivo pode explicar os resultados do estudo longitudinal de Amato^{174; 177} que investigou o funcionamento cognitivo de 70 doentes, numa fase precoce da doença e durante um período compreendido entre 4 anos e 10 anos. Aos 4 anos de seguimento não foi encontrada relação entre o *EDSS* e disfunção cognitiva mas após 10 anos o *EDSS* inicial emergiu como fator preditivo independente de disfunção cognitiva. Estes resultados sugerem que a relação entre atingimento neurológico e disfunção cognitiva não é constante ao longo da evolução da doença. Para além da duração, o curso da doença parece ser um fator importante, pois os doentes com EM-PP têm um envolvimento medular precoce e predominante que justifica a importante incapacidade física, mesmo na ausência de elevada carga lesional encefálica³³². Esta dissociação entre envolvimento medular e cerebral pode manter-se durante anos e também explicar em parte alguns resultados negativos quanto à relação entre disfunção cognitiva e duração de doença¹⁸⁰.

Depressão

A prevalência da depressão em doentes com EM varia nos diferentes estudos entre 15,7% e 54%, sendo estimado um risco de 50% de desenvolver depressão ao longo da vida, o que é significativamente mais elevado do que na população em geral que se estima ser entre 10 a 15%^{319; 351}. Esta perturbação do humor é dos fatores mais importantes na deterioração da qualidade de vida^{169; 352; 353} e na mortalidade³⁵⁴ dos doentes. A natureza da depressão na EM não está, no entanto, completamente esclarecida. Existem dados que apontam para um fenómeno reativo (isto é, secundário a uma doença crónica e de prognóstico indeterminado), mas existem múltiplos estudos que sugerem que possa tratar-se de mais uma manifestação inerente à própria doença^{163; 319; 351; 355; 356}.

A relação entre depressão e aspetos clínicos é controversa e os estudos que analisaram esta possível relação chegaram a resultados contraditórios³¹⁹. Enquanto em alguns se encontrou uma associação significativa entre depressão e características clínicas, nomeadamente incapacidade física e desempenho cognitivo, em outros não foi encontrada qualquer associação^{319; 357; 358}. Uma análise aprofundada destes estudos³¹⁹ sugere que a relação entre a depressão e a incapacidade física é moderada, enquanto a associação entre a depressão e a disfunção cognitiva é mais robusta. A inconsistência de alguns resultados na literatura poderá dever-se à falta de controlo de variáveis “moderadoras de depressão”, tais como o suporte social e o *coping*³¹⁹. Estudos recentes sugerem que a ausência de

estratégias de *coping* adaptativas poderá explicar uma parte da relação entre a depressão e o funcionamento cognitivo^{268; 359; 360}.

A relação entre depressão e características imagiológicas, nomeadamente com lesões nas áreas fronto-temporais, tem sido amplamente demonstrada³⁶¹⁻³⁶⁵. Foi também encontrada uma relação entre depressão e atividade da doença, medida por parâmetros imunológicos, tais como o aumento dos níveis séricos de linfócitos CD4, aumento da relação CD4/CD8 e de linfócitos no LCR em doentes com depressão³⁶⁶⁻³⁶⁸.

Assim, apesar da natureza da depressão na EM não estar ainda esclarecida, a associação desta síndrome a marcadores imagiológicos e imunológicos da doença apoia a hipótese de que a depressão possa ser também uma manifestação própria da doença resultante de anomalias da área fronto-basal e/ou de estruturas límbicas^{194; 361; 362}. A relação entre a depressão e o desempenho em diversos domínios cognitivos reforça a necessidade de uma intervenção terapêutica global dirigida não apenas à disfunção cognitiva, mas também às perturbações psicopatológicas, podendo estas últimas ter um papel importante no sucesso da reabilitação cognitiva dos doentes^{211; 359; 360}.

Fadiga

A fadiga é definida como uma percepção de perda de energia física e mental que interfere com a capacidade para realizar as atividades diárias e de rotina¹⁹⁴. Apesar de este ser um dos sintomas mais comuns na EM, ocorrendo em 38 a 83% dos doentes^{166; 194; 369} e contribuir para a diminuição da qualidade de vida, a sua verdadeira natureza está ainda por esclarecer e os tratamentos que têm sido propostos são de eficácia limitada^{169; 369-371}. A relação entre a fadiga reportada (quantificação subjetiva) e o desempenho cognitivo é complexo e talvez por isso se tem revelado inconsistente¹⁶⁵. Alguns estudos que se debruçaram sobre o tema não encontraram qualquer associação^{166; 194} enquanto outros encontraram uma relação significativa entre fadiga e certos défices cognitivos, nomeadamente velocidade de processamento e atenção^{372; 373}.

É expectável que num futuro não muito distante, se avance no conhecimento dos mecanismos fisiopatológicos da fadiga e se encontrem ferramentas que permitam a sua avaliação objetiva o que se adivinha como fundamental no esclarecimento do seu papel na incapacidade da doença, quer na sua componente física quer na sua componente neuropsicológica³⁷⁰.

1.4.6.3. Características imagiológicas

A ausência de relação entre carga lesional (medida em T2) e desempenho em diversos testes cognitivos^{188; 294; 346} sugere que a contribuição da carga lesional global para a disfunção cognitiva seja limitada⁷⁶. No entanto, existe uma clara relação entre alterações imagiológicas (RM) focais e o desempenho em testes cognitivos, sendo esta relação mais robusta do que a encontrada para a incapacidade física^{76; 197}.

A localização de lesões em áreas “críticas”, seja da substância branca^{294; 295; 346} seja da substância cinzenta (córtex, hipocampo e tálamo), relaciona-se de forma significativa com os défices cognitivos^{4; 204; 298; 299; 374-377}.

Para além da patologia focal, a perda tecidual medida por atrofia geral ou regional encontra-se relacionada de forma robusta com determinados défices cognitivos^{4; 6; 248; 292; 378-381} sendo considerada preditiva de disfunção cognitiva^{4; 83; 297; 382-384}. Há contudo estudos mais antigos que não encontraram qualquer relação^{181; 188; 385; 386}.

Em síntese, a disfunção cognitiva na EM está associada a fatores primários, isto é a patologia encefálica, o que é demonstrado pela robusta relação existente entre dados imagiológicos e desempenho cognitivo, estimando-se que 50% da variabilidade no desempenho cognitivo seja explicado por variáveis imagiológicas³.

1.4.7. Fatores protetores de disfunção cognitiva na EM

Para além destes aspetos, diversos autores têm explorado nos últimos anos a possibilidade da reserva cognitiva modular os efeitos nocivos da patologia no funcionamento cognitivo e assim contribuir para explicar uma parte da heterogeneidade da disfunção cognitiva na EM^{3; 165; 387-394}.

1.4.7.1. Reserva cerebral e cognitiva

A reserva cerebral é um conceito desenvolvido para explicar as diferenças da repercussão da lesão cerebral em diferentes indivíduos, sugerindo que o limiar para atingir a expressão clínica depende das características do substrato neural individual^{395; 396}. A ausência de relação direta entre a patologia cerebral e as manifestações clínicas da lesão tem sido documentada em estudos neuropatológicos e imagiológicos^{397; 398} e constituiu o suporte do conceito de “reserva cerebral” que teria assim uma função protetora.

O conceito de reserva cerebral foi inicialmente concebido como um processo passivo e quantitativo dependente de aspetos estruturais do cérebro (por exemplo: número de

neurónios, perímetro craniano)³⁹⁵, mas atualmente a evidência de que a estimulação ambiental promove a neurogênese sugere que esta reserva cerebral seja um processo dinâmico³⁹⁶. A reserva cognitiva é, conceptualmente, um processo ativo no qual diversos mecanismos, tais como o aumento de sinapses e terminações dendríticas, e outros fatores neuronais, permitem maior eficiência das redes cerebrais e/ou o recrutamento de redes ou estratégias alternativas^{3; 395; 398; 399}. A reserva cognitiva explica assim o motivo pelo qual um indivíduo com elevada inteligência suporta mais lesão cerebral antes de ter manifestações clínicas, mesmo com um perímetro cefálico semelhante a um indivíduo normal, estando ambos os tipos de reserva bem documentados na DA³⁹⁶. Assim, o conceito de reserva engloba os 2 componentes: a reserva cerebral como as características estruturais individuais do cérebro que aumentam a tolerância a determinada patologia e a reserva cognitiva definindo as diferenças funcionais (por exemplo: resultantes de estratégias alternativas) entre indivíduos justificando a sua maior resistência a lesão cerebral³⁹⁶. Nos últimos anos, a reserva cognitiva tem sido descrita em populações saudáveis^{400; 401} e diversas patologias neurológicas, nomeadamente na demência vascular^{402; 403}, na demência frontotemporal⁴⁰⁴, na doença de Parkinson^{405; 406}, na disfunção neurocognitiva associada ao Vírus da imunodeficiência humana (VIH)⁴⁰⁷ e recentemente na EM^{388; 393; 394; 408}. Nestes estudos, são usados diversos indicadores para quantificar e traduzir reserva cerebral e cognitiva, nomeadamente: nível educacional, ocupação, nível de inteligência, atividades de leitura ou cognitivas, atividade física, suporte social, indicadores antropométricos (por exemplo: perímetro craniano) e indicadores imagiológicos (por exemplo: volume cerebral, fluxo sanguíneo, atividade metabólica)^{395; 409}.

1.4.7.2. Reserva cognitiva na EM

A heterogeneidade da disfunção cognitiva na EM, seja pela gravidade ou pelo padrão, é apenas parcialmente explicada (entre 30 a 50%) pelas características métricas de patologia. A possibilidade do efeito protetor de reserva cognitiva justificar uma parte dessa heterogeneidade tem sido uma das hipóteses mais investigadas nos últimos anos^{3; 387; 391}.

Nos últimos anos, vários estudos abordaram a reserva cerebral e cognitiva na EM^{391; 410} e demonstraram que fatores hereditários, tais como fatores antropométricos (por exemplo: o volume intracraniano)³⁹¹, e fatores ambientais, nomeadamente o grau de inteligência pré-mórbida³⁸⁹ inferida pela riqueza de vocabulário³⁹³, a capacidade de leitura³⁹⁴ e a ocupação⁴¹¹ explicam de forma independente a variação do funcionamento cognitivo nesta doença. A importância do nível educacional enquanto indicador de reserva cognitiva

ainda não foi esclarecida na EM ⁴¹¹ apesar de ser um dos indicadores mais estudados na demência de Alzheimer e na demência Vascular ^{409; 412}. A EM, ao contrário da DA, é uma doença que surge em adultos jovens e a esperança média de vida é longa, apenas discretamente diminuída comparativamente à população em geral, pelo que a reserva cognitiva (variável potencialmente modificável na EM) pode ter um papel fundamental na redução e/ou prevenção da disfunção cognitiva ^{390; 391}.

1.5. Evolução do Funcionamento Cognitivo na EM (abordagem longitudinal)

1.5.1. Fatores de risco de declínio cognitivo

A história natural do funcionamento cognitivo na EM é pouco conhecida e já não é possível investigar dado que uma grande parte dos doentes se encontra, precocemente, sob um qualquer tratamento ^{182; 184}. Apesar de, hipoteticamente, a TMD poder ter um potencial efeito benéfico no prognóstico cognitivo reduzindo a carga lesional e contrariando a atrofia cerebral, a evidência do benefício no funcionamento cognitivo é ainda limitada ^{211; 224; 413}. Na maioria dos ensaios, a avaliação do funcionamento cognitivo é um objetivo secundário, sendo utilizada apenas uma única medida neuropsicológica, habitualmente o teste de *PASAT* ²¹¹.

Apesar destas limitações, uma conclusão pode, no entanto, ser retida: a disfunção cognitiva na EM é heterogênea, não apenas na diversidade e gravidade de domínios afetados, mas também por se manifestar em todos os estádios e cursos da doença ^{164; 165; 223; 283-285}.

A informação sobre o prognóstico no que respeita ao declínio cognitivo, resulta de investigação publicada nas duas últimas décadas ³. Apesar de existir um considerável número de estudos longitudinais ^{61; 73; 75; 83; 174; 177; 178; 184; 188; 193; 212; 213; 344-346; 349; 410; 414-418}, a comparação de resultados é difícil devido a fatores limitadores, nomeadamente: diferenças clínicas das populações estudadas; diversidade de baterias NP utilizadas, por vezes limitando-se a uma única área cognitiva; ausência de definição uniformizada de disfunção cognitiva e de declínio cognitivo; e ausência de avaliação e controlo do efeito da prática ^{193; 211}.

O declínio cognitivo ao longo do tempo, entre 3 e 10 anos está documentado em estudos longitudinais ^{83; 174; 178; 188; 344; 345}. No entanto, alguns deles revelaram uma relativa estabilidade cognitiva durante períodos de dois a quatro anos ^{184; 193; 346; 347}.

Apesar de todas as limitações descritas anteriormente, emergem da literatura alguns fatores de risco de declínio cognitivo que dizem respeito a características demográficas, clínicas, genéticas e alterações imagiológicas ³.

1.5.1.1 Características demográficas

A idade de início mais tardia é considerada como fator preditivo de disfunção cognitiva. Isto foi demonstrado em estudos de populações com início da doença na idade adulta ^{4; 174; 187} e com início em idade pediátrica ⁴¹⁴. O sexo masculino parece estar associado a um maior risco de declínio cognitivo ^{311; 419; 420}. O papel da escolaridade como modificador de declínio cognitivo foi explorado em poucos estudos e os resultados obtidos foram aparentemente divergentes ^{187; 408; 410}.

1.5.1.2 Características clínicas

O curso de doença, a incapacidade física e o funcionamento cognitivo inicial destacam-se como variáveis clínicas com significado preditivo de declínio cognitivo.

Curso clínico

Os estudos que exploraram o curso de doença como fator preditivo de declínio cognitivo são escassos uma vez que na maioria dos estudos longitudinais são incluídos doentes apenas com um curso, isto é apenas doentes EM-RR ou EM progressivas, incluindo nestes EM-SP e/ou EM-PP ^{212; 328; 344; 410; 416}. O curso progressivo, nomeadamente EM-SP, foi encontrado como preditivo de declínio cognitivo por alguns autores ^{174; 345}.

Incapacidade física

Nalguns estudos ^{61; 174; 177}, a incapacidade física inicial, medida pelo *EDSS*, tem significado preditivo de declínio cognitivo a longo prazo. No entanto, este resultado não é

corroborado por outros estudos ^{212; 344; 421}. De referir que doentes com curso benigno, definido como *EDSS* ≤ 3 e pelo menos 15 anos de doença, podem ter uma frequência de disfunção cognitiva até 45% ^{192; 201; 419}.

Funcionamento cognitivo inicial

Em vários estudos longitudinais ^{177; 178; 212; 344; 345; 419}, o desempenho cognitivo inicial (na avaliação de entrada nos estudos) foi encontrado como preditivo do funcionamento cognitivo futuro, independentemente de outras variáveis clínicas ou imagiológicas. Alguns estudos revelaram que este perfil inicial é também preditivo da evolução a curto prazo, nomeadamente na conversão da SCI para EM definitiva ²⁰⁸ e de incapacidade física a longo prazo ^{348; 415}.

1.5.1.3. Características imagiológicas

O contributo do padrão das alterações imagiológicas como marcador de prognóstico de deterioração cognitiva é atualmente consensual ^{3; 76; 296}. Dados recentes apontam para a relevância das lesões corticais, mais do que das lesões subcorticais, no prognóstico da disfunção cognitiva ^{4; 5; 83; 297; 378; 382; 383; 418; 422}.

1.6. Tratamento da disfunção cognitiva na EM

O reconhecimento do impacto da disfunção cognitiva na qualidade de vida do doente com EM e a sua interferência nas atividades profissionais, sociais e familiares justifica a importância da abordagem terapêutica desta síndrome ^{211; 224}. A reabilitação cognitiva e o tratamento farmacológico têm como objetivo preservar e se possível melhorar o desempenho cognitivo e o funcionamento psicossocial dos doentes ^{211; 224}.

1.6.1. Reabilitação cognitiva

Vários estudos exploraram os benefícios da reabilitação cognitiva ^{211; 423} e uma revisão da *Cochrane* ⁴²⁴ chegou às seguintes conclusões: 1) existe um grau de evidência limitado de benefício da reabilitação cognitivo-comportamental na EM; 2) as intervenções descritas nos trabalhos publicados são heterogéneas e assim a inferência clínica sobre a

sua eficácia é limitada a cada estudo; e 3) são necessários estudos bem desenhados para evidenciar o benefício deste tipo de abordagem na EM. Conclui-se assim que nesta área o conhecimento atual é insuficiente para se afirmar a eficácia da reabilitação cognitiva em doentes com EM ⁴²⁴.

1.6.2. Tratamento farmacológico

A avaliação do potencial efeito da farmacoterapia na disfunção cognitiva de doentes com EM deverá englobar dois aspectos: a) o efeito dos TMD na cognição, com pressuposto que a melhoria da evolução da doença tem efeito também na evolução do funcionamento cognitivo; e b) o efeito de fármacos sintomáticos, isto é, que melhoram o desempenho em determinados domínios cognitivos já com eficácia demonstrada noutras situações clínicas semelhantes (por exemplo: inibidores acetilcolinesterase para memória; modafinil para fadiga e atenção) ²¹¹.

Tratamentos modificadores da doença

As TMD mostraram ter efeito positivo em parâmetros clínicos (diminuição do número de surtos e diminuição da progressão da incapacidade) e imagiológicos, tais como a carga lesional em T2 e as lesões captantes de contraste em T1 ¹⁰¹. A relação entre disfunção cognitiva e patologia cerebral medida por alterações na RM sugere que as TMD poderão também melhorar ou ter um efeito protetor do funcionamento cognitivo ^{187; 223; 224}.

A maioria dos ensaios clínicos iniciais, que levaram à aprovação das TMD, não incluíram a cognição como medida de eficácia ou foi apenas usada uma medida de velocidade psicomotora (*PASAT*) como objetivo secundário ^{211; 224}. A evidência atual sugere algum benefício destes fármacos no desempenho cognitivo, mas não está ainda esclarecido se o efeito é secundário ao controlo de outros parâmetros clínicos (por exemplo: diminuição do número de surtos ou progressão no *EDSS*) ou se se trata de benefício sustentado ao longo do tempo ^{211; 224}.

Tratamentos sintomáticos

Alguns fármacos originalmente utilizados em doenças neurodegenerativas ou psiquiátricas com objetivo de diminuir o declínio cognitivo (por exemplo, inibidores da acetilcolinesterase) também já foram investigados na EM ⁴²⁵⁻⁴²⁸. Nestes estudos, o

desempenho nos testes NP foi a medida primária de eficácia, tendo os resultados na sua maioria sido negativos ^{426; 427}. Alguns resultados positivos não foram replicados ^{425; 426}. Foram testadas outras substâncias, tais como psicostimulantes e bloqueadores de canais de potássio, mas os resultados foram contraditórios ²¹¹. O estado atual do conhecimento neste campo sugere que a maioria dos tratamentos sintomáticos não tem benefício cognitivo na EM ^{211; 223; 429}.

CAPÍTULO 2 – ESTUDOS REALIZADOS

Nesta secção serão apresentados os estudos observacionais realizados no âmbito desta tese. Optou-se por uma divisão em 2 partes. A primeira parte corresponde a estudos transversais, isto é, que resultam da análise de dados recolhidos num determinado momento. Na segunda parte é apresentado um estudo longitudinal.

CAPÍTULO 2 (Primeira Parte) – ESTUDOS TRANSVERSAIS

ESTUDOS TRANSVERSAIS

O trabalho apresentado nesta secção tem como principal objetivo avaliar e caracterizar o funcionamento cognitivo e comportamental numa população hospitalar de doentes portugueses com EM de modo a responder às seguintes questões:

- Estarão as funções cognitivas alteradas nesta população de doentes? Se sim, quais as áreas cognitivas mais suscetíveis à disfunção?

- Há fatores genéticos, demográficos e clínicos associados a essa disfunção cognitiva?

A caracterização da disfunção cognitiva e dos fatores associados deve permitir responder a uma questão de grande importância:

- Será que existem características preditivas de disfunção cognitiva e comportamental na EM?

Para tentar responder a estas questões, e com base no conhecimento atual descrito na introdução, propusemo-nos:

- 1) Avaliar o desempenho cognitivo (avaliação breve do estado mental e das seguintes áreas cognitivas: velocidade psicomotora, funções executivas, exploração visual, memória, atenção e memória de trabalho e linguagem) numa população de doentes com EM e identificar as funções cognitivas mais suscetíveis à disfunção;
- 2) Analisar se os défices cognitivos encontrados se relacionam com fatores genéticos, demográficos e clínicos;
- 3) Avaliar a capacidade de identificação de cheiros numa amostra de doentes, através do *Brief-Smell Identification Test (B-SIT)* e explorar possíveis associações entre desempenho olfativo e características demográficas e clínicas;
- 4) Explorar a sintomatologia psicopatológica (ansiedade e depressão) numa amostra de doentes e analisar possíveis associações entre sintomas psicopatológicos e características demográficas e clínicas.

Especificamente, as linhas de investigação desenvolvidas permitiram testar as seguintes hipóteses:

- i. A deterioração cognitiva na EM está associada positivamente ao alelo *ApoE* $\epsilon 4$ e negativamente ao alelo *HLA-DRB1*15:01* (ESTUDO 1);
- ii. O risco de disfunção cognitiva está positivamente associado a medidas de incapacidade física e a curso progressivo de doença e negativamente com a escolaridade (ESTUDO 2);
- iii. A perturbação olfativa está significativamente associada a medidas de incapacidade física e ao curso de doença (ESTUDO 3);
- iv. A sintomatologia psicopatológica está associada a variáveis demográficas e a medidas de incapacidade física (ESTUDO 4).

2.1. ESTUDO 1

Objetivo específico: Explorar a associação entre deterioração cognitiva e fatores genéticos (alelo *HLA-DRB1*15:01* e alelo *ApoE ε4*) numa amostra de doentes com EM.

Hipótese a testar: A deterioração cognitiva na EM está associada positivamente com o alelo *ApoE ε4* e negativamente com o alelo *HLA-DRB1*15:01*.

Sujeitos

A população estudada incluiu 419 doentes diagnosticados segundo os critérios revistos de *McDonald*⁶⁴, correspondendo aproximadamente a 80% do total de doentes com EM observados na Consulta de Neuroimunologia do Serviço de Neurologia do CHP-HSA. Os doentes foram incluídos de forma consecutiva no estudo aquando de uma consulta regular de seguimento. Os critérios de exclusão foram: a) doentes analfabetos; b) surto de doença no momento da consulta ou nos 30 dias prévios; c) existência de outras doenças neurológicas ou psiquiátricas severas [dois doentes com tumores cerebrais concomitantes e um doente com EM e D. Parkinson, casos publicados^{430; 431}; dois doentes com diagnóstico concomitante de esquizofrenia e 1 doente com história de uso de drogas de abuso]; d) existência de outras doenças graves que possam interferir com desempenho cognitivo (dois doentes com neoplasias do colon). A amostra de doentes engloba os diferentes cursos de doença, nomeadamente EM-RR, EM-SP e EM-PP. Não foram incluídos doentes com critérios clínicos de formas progressivas recidivantes (EM-PR) dada a raridade dos casos e ao menor conhecimento das características clínicas destes doentes.

Procedimentos

Foi pedida à Direção do CHP-HSA autorização para a concretização da proposta de estudo e foi solicitado pedido de parecer à Comissão de Ética do CHP-HSA e à Comissão Nacional de Proteção de Dados, tendo estas entidades concedido autorização para a realização do estudo. Os doentes foram informados pela Investigadora Principal sobre a natureza do estudo, os seus objetivos e as condições de participação. Foi-lhes solicitada a participação voluntária no estudo e foi-lhes pedido o seu consentimento informado por escrito para a execução da avaliação neuropsicológica, para o estudo genético e para

utilização dos resultados obtidos em apresentações e publicações científicas. A identificação dos doentes foi convertida em código para a elaboração de um registo informático dos dados clínicos e de um registo genético para sua posterior análise, sendo assim respeitado o direito à privacidade e à confidencialidade dos dados colhidos durante a investigação.

Avaliação neurológica

A avaliação neurológica, aquando da inclusão do doente no estudo, foi realizada numa consulta regular de seguimento e incluiu:

- a) recolha de dados demográficos (sexo, idade, anos de escolaridade, estatuto profissional) e clínicos (idade de início; duração da doença; curso de doença; TMD; e medicação com psicofármacos);
- b) realização do exame neurológico, aplicação do *9HPT* e do teste de avaliação breve do estado mental - *Mini-Mental State Examination (MMSE)*;

Com base nos dados clínicos e nos resultados do exame neurológico de cada doente foram calculadas para cada doente medidas relacionadas com incapacidade neurológica - *Expanded Disability Status Scale (EDSS)* ⁴¹, gravidade neurológica - *Multiple Sclerosis Severity Score (MMSS)* ⁴³² e índice de progressão (IP).

Instrumentos de avaliação

EDSS

A *EDSS* é a escala de incapacidade neurológica mais utilizada na avaliação dos doentes com EM, seja na prática clínica seja em ensaios clínicos onde é utilizada como medida para avaliar o objetivo (*endpoint*), seja primário ou secundário ^{41; 433}. O cálculo do índice de *EDSS* é realizado a partir do exame neurológico e implica a avaliação quantificada da incapacidade neurológica em 8 sistemas funcionais, nomeadamente: piramidal, cerebelar, tronco cerebral, sensitivo, vesico-intestinal, visual, mental e outros. Para cada sistema existe a definição de um valor de incapacidade. Os valores de *EDSS* variam entre 0 (exame neurológico normal) e 10 (morte), os valores intermédios correspondem a incapacidade ligeira (1,0-3,0), moderada (3,0-5,0), severo ($\geq 6,0$, sendo que valores entre 6,0-8,0 correspondem a necessidade de deambular com ajuda ou em cadeira de rodas e $EDSS \geq 8,0$ significa que o doente está confinado à cadeira ou ao leito ⁴³³. As principais

vantagens do uso da escala de *EDSS* são: a facilidade da sua aplicação, o seu uso universal e ter sido a escala utilizada na maioria dos estudos de história natural da doença ^{433; 434}. As desvantagens relacionam-se com alguma subjetividade na quantificação das alterações encontradas no exame neurológico, especialmente nas fases precoces de doença e à deficiente quantificação de alguns défices, nomeadamente a incapacidade relacionada com os défices cognitivos e a disfunção dos membros superiores ^{347; 434-436}. Dadas as limitações conhecidas da medida *EDSS* para o funcionamento cognitivo e sendo a quantificação das funções mentais (memória, atenção e humor) baseado num julgamento clínico do avaliador e não em avaliação neuropsicológica, este componente do *EDSS* foi considerado desconhecido para o cálculo do valor da *EDSS* conforme prática corrente em ensaios clínicos.

MSSS e IP

As medidas de gravidade, nomeadamente o *MSSS* e o *IP*, foram calculados para cada avaliação neurológica. O *MSSS* é um algoritmo que permite relacionar índices de *EDSS* com a distribuição da incapacidade em doentes com durações de doença comparáveis ⁴³². Esta medida tem sido utilizada nos últimos anos em múltiplos estudos, tendo sido considerada uma medida preditiva de incapacidade ao longo do tempo ⁴³⁷. O *IP* é calculado dividindo o índice de *EDSS* pelo tempo de duração de doença (em anos).

MMSE

A avaliação breve do estado mental foi realizada com o *MMSE*, teste composto por um conjunto de perguntas que avaliam a orientação no tempo e no espaço, a memória verbal, a atenção e o cálculo mental, a linguagem e a construção visuo-espacial ⁴³⁸. O teste é administrado em 5-10 minutos. A sua pontuação pode variar entre 0 e 30. O *MMSE* é usado no rastreio de deterioração cognitiva em diversas doenças, incluindo a EM ⁴³⁹⁻⁴⁴¹. A versão utilizada neste estudo está validada para a população portuguesa, sendo a definição de défice de acordo com o ponto de corte específico para cada nível de escolaridade ⁴⁴².

9HPT

O *9HPT* é um teste que avalia a destreza e a velocidade de execução motora manuais ⁴⁴³. É realizado com um tabuleiro e com nove pinos. O sujeito deve pegar num pino de cada vez e coloca-lo num dos orifícios do tabuleiro. Depois de colocar todos os pinos deve retirá-los de imediato um de cada vez. A medida dependente corresponde à média do tempo de execução da tarefa (colocar todos os pinos e retirar todos os pinos) com a mão direita e com a mão esquerda. Os primeiros dois ensaios são realizados com a mão dominante seguidos de dois ensaios com a mão não-dominante. Pontuações mais baixas correspondem a menor duração e assim a melhor desempenho na tarefa ⁴⁴³.

O *9HPT* é utilizado nos estudos de doentes com EM para avaliação da motricidade fina dos membros superiores, sendo considerado mais sensível para avaliar disfunção nos membros superiores do que o *EDSS* ^{444; 445}. Dada a elevada frequência de défices motores dos membros superiores na EM, devido a lesões nas vias piramidais ou cerebelosas, a utilização deste teste como medida “pura” de velocidade psicomotora não é recomendada. O desempenho no *9HPT* nestes doentes está relacionado com a incapacidade para realizar algumas tarefas diárias e com a situação profissional ⁴⁴⁶⁻⁴⁴⁸. Foram considerados com défice os doentes com desempenho no *9HPT* ajustado às características demográficas superior ao percentil 95 do grupo de controlo do estudo 2 desta tese (ou seja, execução mais lenta do que o desempenho estimado de 95% dos sujeitos saudáveis com características demográficas semelhantes) e os doentes que não foram capazes de realizar o *9HPT* (por exemplo: doentes com parésia, dismetria ou ataxia importante nos membros superiores).

Análise genética

A colheita de sangue foi realizada, por regra, no mesmo dia da consulta e após a avaliação clínica. Os estudos genéticos foram efectuados no Laboratório de Imunogenética do Departamento de Patologia e Imunologia Molecular do Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar (ICBAS). O DNA genómico foi isolado pelo método de *salting-out* ⁴⁴⁹, a partir de leucócitos do sangue periférico. A identificação do alelo *HLA-DRB1*15:01* foi efectuada pela técnica de *Polymerase Chain Reaction* ⁴⁵⁰ com *Sequence Specific Primers* (PCR-SSP) e a identificação do alelo *APOE* pela técnica de *Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism* (PCR-RFLP).

O estudo do alelo *HLA-DRB1*15:01* foi feito em 371 doentes (89% da população do estudo) e do alelo *ApoE ε4* em 347 doentes (83% da população do estudo). Dificuldades

logísticas para a colheita de sangue no dia da consulta e, mais raramente, a recusa do doente foram os motivos para a inexistência de dados genéticos de alguns doentes.

Análise estatística

A frequência dos alelos *HLA-DRB1*15:01* e *ApoE ε4* foi obtida por contagem direta. O equilíbrio de *Hardy-Weinberg* foi confirmado nas populações estudadas. Para avaliar a eventual associação entre variáveis genéticas e clínicas, foram utilizados os testes de qui-quadrado, o teste de *Mann-Whitney* e teste de regressão logística simples. Foi considerado significativo um valor de $p < 0,05$.

Todas as análises foram efetuadas utilizando o programa de análise estatística de dados *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)* v.21.0.

Resultados

As características da população estudada encontram-se descritas no quadro 1.

Quadro 1 - Características demográficas, clínicas e genéticas dos doentes

Doentes (total=419)	
Sexo, ♀/♂ (%)	266/153 (63%/37%)
Idade, mediana (intervalo)	39 (16-71)
Escolaridade Baixa : ≤9 anos, nº sujeitos (%) Elevada : >9 anos, nº sujeitos (%)	166 (39,6%) 253 (60,4%)
Estatuto profissional (%) - Ativo - Reformado - Pensão invalidez - Desempregado - Doméstica - Estudante	248 (59%) 83 (19,5%) 24 (6%) 27 (6%) 18 (4,5%) 19 (5%)
Idade de início da doença, mediana (intervalo)	29 (10-60)
Duração de doença, mediana em anos, (intervalo)	8 (1-47)
Curso de doença - EM-RR - EM-SP - EM-PP	332 (79%) 44 (11%) 43 (10%)
EDSS, mediana (intervalo)	3 (0-7,5)
IP, mediana (intervalo)	0.3 (0-4,5)
MSSS, mediana (intervalo)	3.54 (0,03-9,57)
MMSE, nº doentes com défice (%)	47 (11,2%)
9HPT, nº doentes com défice (%)	167 (40%)
Doentes com psicofármacos	150 (35,8%)
Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS) - doentes com valores HADS depressão ≥11 - doentes com valores HADS ansiedade ≥11	49 (12%) 108 (25,8%)
Presença do alelo <i>HLA-DRB1*15:01</i> em 371 sujeitos**	126 (34%)
Presença do alelo <i>ApoE ε4</i> em 347 sujeitos*	67 (19,3%)

**Frequências genotípicas

Quarenta e sete doentes (11,2%) tiveram pontuações no *MMSE* no espectro característico de doentes com demência, tendo sido classificados como doentes com deterioração cognitiva. A frequência genotípica encontrada para o alelo *HLA-DRB1*15:01* foi de 34% e a frequência genotípica do alelo *ApoE ε4* foi de 19,3%.

Para investigar a associação entre marcadores genéticos e deterioração cognitiva na EM foram considerados 2 grupos de doentes, de acordo com a pontuação no *MMSE*: **Grupo A** - Doentes com deterioração cognitiva (n=47); e **Grupo B** - Doentes sem deterioração cognitiva (n=372) (quadro 2).

Quadro 2 - Características demográficas, clínicas e genéticas de doentes com e sem deterioração cognitiva

	Grupo A (n=47)	Grupo B (n=372)	p
Sexo (♀/♂)	28/19	238/134	0,555 ^a
Idade , mediana (intervalo)	45 (21-70)	38 (16-71)	<0,001 ^b
Escolaridade , % >9 anos	38,3% (18)	63,2% (235)	0,001 ^a
Curso de doença	26 RR/13 SP/8 PP	306 RR/31SP/35PP	<0,001 ^a
Idade de início , mediana (intervalo)	28 (12-59)	29(10-60)	0,469 ^b
Duração de doença , mediana (intervalo)	13 (1-47)	7 (1-45)	<0,001 ^b
EDSS , mediana (intervalo)	5 (1-7,5)	2,53(0-7,5)	<0,001 ^b
MSSS , mediana (intervalo)	5,6 (0,94-9,24)	3,0(0,03-9,57)	<0,001 ^b
IP , mediana (intervalo)	0,47 (0-2)	0,29 (0-4,5)	0,076 ^b
9NHP total , nº doentes com défice (%)	30 (63,8%)	137 (36,8%)	<0,001 ^a
Presença do alelo <i>HLA-DRB1*15:01</i>^c , nº sujeitos (%)	14 em 46 (30,4%)	112 em 325 (34,5%)	0,589 ^a
Presença do alelo <i>ApoE ε4</i>^c , nº sujeitos (%)	9 em 42 (21,4%)	58 em 305 (19%)	0,710 ^a

^a teste de qui-quadrado; ^b teste de *Mann-Whitney*; ^c Frequência genotípica

Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre o grupo A e grupo B para o sexo, a idade de início, o IP e a frequência fenotípica dos alelos *DRB1*15:01* e *ApoEε4* (quadro 2).

O grupo de doentes com pontuações no *MMSE* no espectro característico da demência (Grupo A) é mais velho, tem menor escolaridade, maior duração de doença, maior incapacidade (medida pelo *EDSS*) e índices de gravidade neurológica mais elevados (medida pelo *MSSS*). Foi encontrada uma associação entre deterioração cognitiva e curso progressivo da doença ($p < 0,0001$). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre doentes com e sem alelo *HLA-DRB1*15:01* ou com e sem alelo *ApoE ε4* para as variáveis estudadas: sexo, idade, escolaridade dicotomizada, curso de doença, idade de início, duração de doença, *EDSS*, *MSSS*, IP e frequência de défice no 9NHP ($p > 0,05$) (valores não apresentados).

Discussão

Na população estudada ($n=419$) a frequência de deterioração cognitiva (doentes com pontuações no *MMSE* no espectro característico da demência) foi de 11,2%. Este valor está de acordo com o descrito na literatura que reporta demência como uma manifestação clínica relativamente rara na EM ^{166; 190; 194}. Apesar das limitações conhecidas do *MMSE* na detecção de disfunção cognitiva na EM ⁴⁴¹, a sua facilidade e rapidez de administração e a sua elevada especificidade (98%) justificam o seu uso como teste de rastreio de deterioração cognitiva global na EM ^{179; 439-441; 451}.

A frequência genotípica do alelo *HLA-DRB1*15:01* encontrada no grupo total de doentes foi de 34%, o que está de acordo com a literatura ¹²², sendo que a frequência deste mesmo alelo foi de 19% numa amostra de 282 sujeitos saudáveis oriundos da mesma região geográfica ($p=0,00007$; $OR=2,076$; $IC95\%=1,44-2,98$). Estes dados confirmam o alelo *HLA-DRB1*15:01* como marcador de suscetibilidade à doença nesta população. De realçar que esta associação já tinha sido por nós descrita, mas numa população menor de doentes ($n=248$ doentes) ¹²⁷.

A frequência genotípica do alelo *ApoE ε4* nos doentes com EM é semelhante à encontrada num grupo de 301 sujeitos saudáveis oriundos da mesma região geográfica (19,3% EM vs. 19% controlos; $p=0,147$; $OR=0,136$; $IC95\%=0,90-2,06$). Este resultado está em sintonia com o descrito em diversas populações, inclusive em populações Portuguesas

^{97; 146; 148} e confirma a ausência de efeito significativo deste alelo na suscetibilidade à doença ^{148; 452}.

Num estudo publicado em 2007, englobando uma parte dos doentes agora analisados, verificou-se que a presença do alelo *HLA-DRB1*15:01* estava associado a um melhor prognóstico, definido pelo tempo que os doentes demoravam a atingir *EDSS*=3 e *EDSS*=6 ¹²⁷. A questão do papel do alelo *HLA-DRB1*15:01* na gravidade da disfunção cognitiva na EM está ainda pouco explorada ¹³⁵. No presente estudo, foi colocada a hipótese de o alelo *HLA-DRB1*15:01* poder estar associado a um melhor prognóstico cognitivo. No entanto, não foi possível rejeitar a hipótese nula. Ou seja, não foi encontrada uma associação significativa entre a presença deste alelo e a deterioração cognitiva. Este resultado negativo está de acordo com um estudo recente ¹³⁵. No entanto, existe pelo menos um trabalho em que foi encontrada uma associação negativa estatisticamente significativa ¹³⁴. A diferença nas medidas cognitivas utilizadas nos diferentes estudos poderá explicar em parte a divergência de resultados ^{134; 135}.

Relativamente ao alelo *ApoE ε4* não foi encontrada qualquer associação entre a sua presença e a deterioração cognitiva. O número reduzido de doentes com deterioração cognitiva (grupo A, n=47) limita a exploração da relação com o alelo *ApoE ε4*, ainda que o resultado encontrado esteja de acordo com a maioria dos estudos que exploraram a influência da presença deste alelo no desempenho cognitivo ^{155; 312-314; 317}. Existem, porém, alguns estudos onde foi encontrada uma associação entre a presença do alelo *ApoE ε4* e um pior desempenho cognitivo ^{309-311; 315; 453}. Os estudos com associações positivas têm também limitações, nomeadamente basearam-se em amostras relativamente pequenas de doentes e respeitantes apenas a doentes do sexo masculino, doentes com disfunção cognitiva severa ⁴⁵³ e a domínios cognitivos específicos ^{309; 310}.

Em resumo, neste estudo não foram encontradas associações estatisticamente significativas entre deterioração cognitiva (medida pelo *MMSE*) e a presença dos alelos *HLA-DRB1*15:01* e *ApoE ε4*.

2.2. ESTUDO 2

Objetivos específicos:

- 1) Caracterizar o funcionamento cognitivo num grupo de doentes com EM e identificar as funções cognitivas mais suscetíveis à disfunção;
- 2) Relacionar défice cognitivo com fatores demográficos (por exemplo: sexo, idade, escolaridade) e clínicos (por exemplo: idade de início, curso de doença, duração de doença, *EDSS*, *MSSS* e índices psicopatológicos).

Hipótese a testar: O risco de disfunção cognitiva na EM está positivamente associado à incapacidade neurológica e ao curso progressivo de doença e, negativamente à escolaridade.

Sujeitos

A população de doentes que participou neste estudo foi a mesma do estudo 1 (ver secção resultados, quadro 1).

As avaliações neurológica e NP foram realizadas, por regra, no mesmo dia da consulta de rotina. Pontualmente, a avaliação NP foi realizada até sete dias após a consulta de rotina. Como grupo de controlo foram incluídos 159 sujeitos saudáveis, sem história de doença neurológica ou psiquiátrica, com idade e escolaridade semelhantes aos doentes [idade (mediana) = 41 anos \pm 13 (intervalo: 18-71); escolaridade (mediana) = 12 anos \pm 5 (intervalo: 3-17)] recrutados na comunidade. A percentagem de mulheres na população de doentes é menor do que no grupo controlo [266 (63%) vs. 128 (81%), $p < 0,001$].

Procedimentos

A colheita dos dados demográficos, clínicos e a avaliação neurológica foram realizados como descrito para o estudo 1 (ver secção de procedimentos do estudo 1).

Avaliação NP

Os doentes e os controlos foram avaliados com uma bateria de testes NP, que foi administrada por um psicólogo com treino e experiência adequada para o efeito. A avaliação NP dos doentes foi realizada em regra após a consulta de Neurologia, obedecendo ao princípio da avaliação cega. A bateria NP incluiu os seguintes testes: Matrizes atencionais (MA), *Wisconsin Card Sorting Test (WCST)*, Fluência Verbal Literal (FVL), *Auditory Verbal Learning Test (AVLT)*, Memória de dígitos (MD), Teste de *Corsi (TC)* e Repetição de frases (RF).

Esta bateria de testes NP foi escolhida com o objetivo de cumprir algumas características que são consideradas importantes na avaliação dos doentes com EM ^{222; 454; 455}, tais como:

- a) Permitir estudar um conjunto alargado de funções cognitivas. Isto é fundamental dada a existência de lesões em múltiplos locais do SNC com atingimento de diversos circuitos neuronais, que podem interferir com diferentes processos cognitivos;
- b) Avaliar os domínios cognitivos já identificados como mais afetados pela doença nomeadamente a velocidade psicomotora, a atenção, a aprendizagem e memória e as funções executivas;
- c) Minimizar ou controlar alguns fatores conhecidos que podem interferir com o desempenho cognitivo, tais como: 1) as características pré-mórbidas da população, nomeadamente o nível de escolaridade; 2) os índices de ansiedade e depressão tendo sido utilizado um questionário para a sua avaliação; 3) a fadiga, um dos sintomas mais frequentes e incapacitantes na EM e conhecida como podendo influenciar o desempenho cognitivo ^{166; 372}. Para tal foi escolhida uma bateria com duração de administração não muito longa (cerca de 40 minutos, isto é, semelhante à bateria *BRNB* e com cerca de metade da duração de *MACFIMS*);
- d) Escolher testes NP de utilização universal, isto é, instrumentos usados em Portugal e em todo o mundo para a avaliação NP de diversas patologias neurológicas e que apresentam características psicométricas bem conhecidas;
- e) Ser uma bateria bem conhecida dos psicólogos que participaram na recolha dos dados.

A principal desvantagem desta bateria NP resulta do facto de não existir informação sobre a sua sensibilidade para a disfunção cognitiva na EM, ao contrário das baterias *BRNB* e *MACFIMS*. No entanto, até à data de realização dos estudos apresentados neste trabalho, não tinham sido concluídos estudos de adaptação e validação para a população portuguesa de qualquer uma destas baterias.

Na mesma sessão da avaliação NP foi também aplicada a ambos os grupos (doentes e controlos) uma escala de ansiedade e depressão – *Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)*. O *9HPT* foi aplicado no início da bateria NP. A ordem dos testes NP foi a mesma para todos os examinados.

Resumo dos principais testes NP e escala psicopatológica

Matrizes atencionais (MA)

As MA são um teste de papel e lápis. A tarefa consiste em riscar o(s) número(s), escrito(s) no topo de uma folha A4, numa matriz de números com 10 colunas x 13 linhas. O sujeito realiza o teste com três matrizes diferentes de dificuldade crescente (no 1º ensaio tem de identificar apenas um número, no 2º ensaio tem de identificar dois números e no 3º ensaio tem de identificar três números). É cronometrado o tempo total de execução (MA tempo) e o total de números corretamente riscados (MA respostas corretas) nos três ensaios. Este teste avalia velocidade psicomotora, exploração visual e atenção ⁴⁵⁶. Pontuações mais baixas no MA tempo e mais altas no MA respostas corretas correspondem a melhor desempenho.

A escolha do teste de MA para avaliar a velocidade psicomotora e a exploração visual em doentes com EM, em substituição de testes habitualmente utilizados, nomeadamente o *PASAT* e *SDMT*, resultaram de algumas considerações:

a) O *PASAT* é um teste de difícil aplicação, quer para doentes quer para avaliadores, e está descrito como associado a maior fadiga e *stress* ²³³. A baixa escolaridade de uma parte significativa dos doentes na população estudada (39,6% têm menos de 9 anos de escolaridade) contribuiria para uma maior dificuldade de aplicação do *PASAT* e para uma muito provável redução da sua validade, como ferramenta de avaliação NP;

b) A versão do *SDMT* mais adequada para estes doentes é a versão oral ^{222; 227; 229}, pois a versão escrita tem uma componente motora importante sendo o seu

desempenho dependente da capacidade motora e coordenação dos membros superiores. A versão oral do *SDMT* é uma versão adaptada não sendo atualmente de uso universal;

c) o teste MA é mais fácil de aplicar, as exigências de escolaridade são menores do que para o *PASAT* e já foi aplicado na avaliação cognitiva de diversas populações neurológicas, incluindo portuguesas^{255; 457-459}. No entanto, este teste tem uma desvantagem que reside na possível interferência dos défices motores ou da coordenação dos membros superiores no seu desempenho, em particular na medida MA tempo. A interferência de défices neurológicos primários, nomeadamente visuais e motores no desempenho de testes NP, é um dos problemas reconhecidos na avaliação cognitiva dos doentes com EM^{194; 229}, existindo em testes que fazem parte da bateria *MACFIMS*, tais como o *Brief Visuospatial Memory Test revised*²²⁹.

Wisconsin Card Sorting Test (WCST) – versão de Nelson modificada

O *WCST* – versão de Nelson modificada – é um teste que avalia funções executivas, nomeadamente flexibilidade de raciocínio e planeamento estratégico. É também uma medida do funcionamento frontal e pré-frontal do cérebro⁴⁶⁰.

Este teste é realizado com 48 cartas e quatro cartas chave. É pedido ao sujeito que disponha cada uma das 48 cartas abaixo de uma das quatro cartas chave. O objetivo é que o participante descubra as regras subjacentes à realização da tarefa. A pontuação consiste no número de categorias corretamente identificadas (*WCST* categorias) e no número de erros perseverativos realizados durante a tarefa (*WCST* erros). Pontuações mais elevadas nas categorias e menores no número de erros perseverativos correspondem a melhores desempenhos.

Fluência verbal literal (FVL)

A fluência verbal literal⁴⁶¹ consiste em dizer o mais rápido possível todas as palavras que o participante se recorde que comecem pelas letras “C”, “A” e “E”. O tempo total para cada letra é de 60 segundos. Não são permitidos nomes próprios. As respostas perseverativas, as intrusões (por exemplo: palavras começadas por outra letra) e as variações da mesma palavra não são contabilizadas. A pontuação final corresponde à soma dos três ensaios. Pontuações mais elevadas correspondem a melhores resultados. Este

teste faz parte das baterias *BRNB* e *MACFIMS*, sendo um teste que mede funções executivas ainda que tenha uma componente de velocidade de processamento e de linguagem.

Auditory Verbal Learning Test (AVLT)

O AVLT é um teste de avaliação de memória ⁴⁶² no qual é pedido ao participante que evoque o maior número de palavras imediatamente após a leitura pelo examinador de uma lista de 15 palavras ao ritmo de uma palavra por segundo. As palavras da lista são de uso frequente e não relacionadas entre si. Este procedimento é repetido cinco vezes. A soma dos cinco ensaios corresponde ao índice AVLT evocação imediata (AVLT imediato). Após 30 minutos de intervalo, durante os quais o participante realiza outras tarefas NP, é pedido novamente ao sujeito para evocar o maior número de palavras da lista, sem que esta seja novamente lida pelo examinador. O número de palavras corretamente recordadas dá a pontuação do AVLT evocação aos 30 minutos (AVLT 30). Após este ensaio de evocação diferida, é apresentada uma lista de 30 palavras, 15 das quais correspondem à lista inicial e 15 são novas. É pedido ao participante para identificar as palavras que se encontravam na lista inicial e as que não estavam na lista inicial. A pontuação no ensaio de reconhecimento corresponde ao número total de palavras corretamente identificadas como estando ou não na lista inicial (AVLT rec). Pontuações mais elevadas correspondem a melhores resultados.

Memória de dígitos (MD)

O teste MD é um teste de atenção e memória de trabalho. Consiste na repetição de uma série de dígitos lidos pelo examinador, inicialmente pela ordem apresentada (direta) e posteriormente pela ordem inversa. São realizados dois ensaios por cada série de dígitos. Se em pelo menos um dos ensaios a repetição é correta, são apresentados 2 novos ensaios com séries de dígitos mais longas. O número de dígitos da maior série repetida sem erro corresponde à pontuação atribuída ao doente. A pontuação final corresponde à soma da pontuação no teste por ordem direta e inversa. Pontuações mais altas correspondem a melhor desempenho na tarefa.

Teste de Corsi (TC)

O TC é um teste de atenção e memória de trabalho visuo-espacial realizado com um tabuleiro onde estão colocados um conjunto de cubos^{463; 464}. O teste consiste em tocar num conjunto de cubos pela mesma ordem da realizada pelo examinador, logo após o examinador ter terminado. São realizados até três ensaios para cada série. Se dois ensaios são repetidos corretamente, uma série mais longa é administrada. A série mais longa com duas respostas corretas é considerada a pontuação final. Pontuações mais altas correspondem a melhor desempenho na tarefa.

Repetição de Frases (RF)

O teste de repetição de frases é uma medida de linguagem, mas também pode medir atenção. Neste teste, o examinador lê uma sequência de frases que deve ser repetida pelo participante^{455; 457}. A extensão e complexidade da frase aumentam, sendo considerado erro qualquer alteração à repetição. Após três erros consecutivos, o teste é suspenso. As pontuações variam entre zero e 14, correspondendo pontuações mais elevadas a melhores resultados.

Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS)

A HADS^{465; 466} é um questionário psicopatológico que contém 14 questões, sete destinadas a medir ansiedade - *HADS ansiedade (HADS a)* e sete para medir depressão - *HADS depressão (HADS d)*, permitindo obter índices de sintomas para cada um destes domínios. Para cada questão, o participante escolhe uma de quatro opções que melhor reflete o seu estado na semana anterior à avaliação. Cada questão é pontuada entre zero e três, variando assim o intervalo de pontuações para cada subescala entre zero e 21. Pontuações mais elevadas em cada subescala indicam níveis de sintomas psicopatológicos mais elevados.

Análise estatística

Para a caracterização do funcionamento cognitivo, os resultados da bateria NP (por exemplo: tempo de execução, nº de erros) e do *9HPT* de cada sujeito foram ajustados para

o sexo, a idade e a escolaridade (com base nos coeficientes de regressão do grupo de controlo) usando uma análise de regressão linear múltipla.

Foi considerado deficitário numa determinada medida quando o desempenho foi inferior ao percentil 5 do grupo controlo (i.e. especificidade estimada de 95%) nas medidas *WCST* categorias, *FVL*, *MA* respostas corretas *AVLT* imediato, *AVLT* 30, *AVLT* rec, *TC*, *MD*, *RF* e superior ao percentil 95 do grupo controlo (i.e. especificidade estimada de 95%) nas medidas *9HPT*, *MA* tempo e *WCST* erros. Foram considerados níveis elevados de psicopatologia, quando as pontuações na *HADS* ansiedade e depressão ajustadas às características demográficas encontravam-se acima do percentil 95 (isto é especificidade estimada de 95%) do grupo controlo.

Para determinar quais as variáveis significativamente associadas ao défice em cada medida foram identificados OR através da regressão logística simples e múltipla (com seleção de variáveis). A escolha das variáveis independentes objeto de análise foi feita com base na relevância clínica previamente descrita para desempenho cognitivo.

Variáveis dependentes (dicotomizadas) estudadas:

- a) *MMSE* – sujeitos com pontuações no espectro característico de doentes com demência foram classificados com deterioração cognitiva (n° de doentes com deterioração cognitiva = 47);
- b) *9HPT* – sujeitos com desempenho superior ao percentil 95 do grupo controlo ou que não conseguiram realizar este teste foram considerados deficitários neste teste de destreza manual (n° de doentes com défice no *9HPT* = 167);
- c) Cada uma das medidas da bateria NP (deficitário de acordo com a definição previamente descrita);
- d) Disfunção cognitiva moderada – sujeitos com pelo menos 25% de medidas na bateria NP deficitárias foram classificados com disfunção cognitiva moderada (n° de doentes com disfunção cognitiva moderada = 80).

Variáveis independentes estudadas:

- a) Demográficas: sexo (codificado: mulheres=0, homens=1), idade e escolaridade (dicotomizada: baixa ≤ 9 anos=0 e elevada > 9 =1);

- b) Características clínicas: idade de início, curso de doença, duração da doença, *EDSS*, *HADS* depressão e ansiedade ajustadas para as características demográficas de cada doente (com base nos coeficientes de regressão para idade, sexo e escolaridade do grupo controlo) e categorizadas de acordo com o percentil 95 dos normais.

A escolha das variáveis independentes para a análise de regressão logística múltipla baseou-se na presença de associação significativa na análise de regressão logística simples ($p < 0,05$). O método de seleção de variáveis escolhido nesta regressão logística múltipla foi o *forward stepwise*.

A análise foi efetuada utilizando o programa de análise estatística de dados *SPSS* v.21.0 e foi considerado significativo um $p < 0,05$.

Dado o grau de colinearidade entre algumas variáveis independentes, nomeadamente o *MSSS*, o *EDSS* e a duração de doença, para cada medida foram utilizados dois modelos de regressão logística múltipla distintos: o Modelo 1 não inclui o *MSSS* e o Modelo 2 não inclui o *EDSS* e a duração de doença ainda que estas variáveis possam ter uma relação significativa na regressão logística simples. Para as medidas de funções executivas não foi necessário utilizar múltiplos modelos de regressão múltipla.

Resultados

Objetivo 1 - Caracterização do funcionamento cognitivo numa população de doentes com EM e identificação das funções cognitivas mais vulneráveis à disfunção.

As características demográficas e clínicas dos doentes da população estudada encontram-se descritas no estudo 1 (ver secção resultados, quadro 1).

Trezentos e sessenta e oito doentes (88% do total) realizaram a totalidade dos testes da bateria NP.

A frequência de doentes com défice em cada uma das medidas NP é significativamente ($p < 0,05$) superior à dos controlos nas medidas: MA tempo e MA respostas corretas, FVL, *AVLT* imediato, *AVLT* 30, *AVLT* rec e *TC* (quadro 3). Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas na frequência de défice para as medidas *WCST* categorias, *WCST* erros, MD e RF.

Os resultados da bateria NP nos doentes com EM traduzem um maior atingimento nas áreas de velocidade psicomotora, exploração visual e memória, com relativa preservação da linguagem (quadro 3).

Quadro 3 - Caracterização das áreas cognitivas avaliadas e número de doentes com défice nas diferentes medidas NP

Áreas avaliadas	Medidas Utilizadas	Doentes avaliados	Doentes com défice N (%)	Doentes vs. controlos* <i>P</i>
Velocidade psicomotora	MA tempo	403	111 (28%)	<0,001 ^a
F. executivas	WCST categorias	392	67 (17%)	0,069 ^a
	WCST erros	392	33 (8%)	0,974 ^a
	FVL	412	47 (11%)	0,003 ^a
Exploração visual	MA respostas corretas	403	76 (19%)	<0,001 ^a
Memória	AVLT 30	417	80 (19%)	<0,001 ^a
	AVLT imediato	417	61 (15%)	<0,001 ^a
	AVLT rec	417	29 (7%)	0,007 ^a
Atenção e memória de trabalho	MD	418	37 (9%)	0,072 ^a
	TC	414	42 (10%)	0,014 ^a
Linguagem	Repetição de frases	406	33 (8%)	0,977 ^a

^a Teste qui-quadrado

Da população total de doentes estudados, 80 sujeitos (19%) apresentaram pelo menos 25% das medidas NP deficitárias, sendo esta percentagem significativamente maior do que nos controlos (3%) (quadro 4).

Quadro 4 - Prevalência da disfunção cognitiva moderada em doentes e no grupo controlo ($\geq 25\%$ das medidas NP alteradas)

Disfunção cognitiva moderada	Doentes N (%)	Controlos N (%)	<i>p</i>
Não	339 (81)	154 (97)	<0,001a
Sim	80 (19)	5 (3)	

^a Teste qui-quadrado

Objetivo 2 - Explorar a associação entre disfunção cognitiva e características demográficas e clínicas.

Para investigar a relação entre a disfunção cognitiva e as características demográficas e clínicas foram feitas análises de regressão logística. Os resultados das análises de regressão logística simples e múltipla encontram-se nos quadros 5 a 10, tendo sido apenas assinaladas as variáveis que obtiveram resultados estatisticamente significativos ($p < 0,05$).

Análise de regressão logística simples

a) Características demográficas

O aumento da idade está positivamente associado a deterioração cognitiva medida pelo *MMSE* e a défice no *9HPT*, no teste MA (MA tempo e MA respostas corretas) e no teste *AVLT* (*AVLT* imediato, *AVLT* 30 e *AVLT* rec) (quadros 5,6 e 8). Os resultados mostram que a probabilidade de défice no *TC* é superior nos doentes do sexo masculino (quadro 9).

Foram encontradas associações negativas entre a escolaridade (variável dicotomizada) e a frequência de deterioração cognitiva medida pelo *MMSE*, de défice no *9HPT*, de défice no teste de velocidade psicomotora e de exploração visual (MA tempo e MA respostas corretas), de défice num teste de funções executivas (*WCST* categorias e *WCST* erros), de défice no teste de memória (*AVLT* imediato e *AVLT* rec) e de disfunção cognitiva moderada (quadros 5 a 8 e 10). No caso do teste de FVL, a associação encontrada é no sentido inverso, isto é, a escolaridade mais elevada associa-se a maior défice neste teste (quadro 7);

b) Características clínicas

O curso EM-SP encontra-se associado a maior risco de défice ($p < 0,05$): no *MMSE*, no teste de destreza manual (*9HPT*), no teste de velocidade psicomotora e de exploração visual (MA tempo e MA respostas corretas), no teste de memória (*AVLT* imediato, *AVLT* 30 e *AVLT* rec), num teste de atenção e memória de trabalho (*TC*), no teste de linguagem (RF) e na disfunção cognitiva moderada (quadros 5,6 e 8 a 10). O curso EM-PP associa-se a maior risco de deterioração cognitiva medida pelo *MMSE*, de défice na destreza manual (*9HPT*), de défice no teste de velocidade psicomotora e exploração visual (MA tempo e MA respostas corretas) e no teste de linguagem (RF) (quadros 5, 6 e 9).

Níveis mais elevados de incapacidade neurológica (*EDSS*) e de gravidade neurológica (*MSSS*) encontram-se associados a maior risco de deterioração cognitiva medida pelo *MMSE*, de défice na destreza manual (*9HPT*), de défice no teste de velocidade psicomotora e exploração visual MA (MA tempo e MA respostas corretas), de défice no teste de memória (*AVLT* imediato, *AVLT* 30 e *AVLT* rec), de défice num teste de atenção e memória de trabalho (*TC*) e de défice no teste de linguagem (RF) e de disfunção cognitiva moderada (quadros 5,6, 8 a 10).

Valores na subescala *HADS* depressão considerados elevados (variável dicotomizada) encontram-se associados a maior risco de deterioração cognitiva medida pelo *MMSE*, de défice na destreza manual (*9HPT*), de défice num teste que mede funções executivas (FVL), de défice no teste de memória (*AVLT* imediato e *AVLT* 30) e de défice no teste de linguagem (RF) e de disfunção cognitiva moderada (quadros 5, 7 a 10).

Não foram encontradas associações significativas ($p > 0,05$) entre défice nos diferentes testes e medidas da bateria NP e as variáveis idade de início e *HADS* ansiedade (variável dicotomizada).

Análise de regressão logística múltipla

A análise de regressão logística múltipla revelou que a idade, a escolaridade (variável dicotomizada), o curso de doença, o *EDSS*, o *MSSS* e a *HADS* depressão (variável dicotomizada) mantêm-se como fatores preditivos de défice em diversas medidas cognitivas, mesmo quando controladas para outras co-variáveis (quadros 5 a 10):

- a) A idade associa-se a maior risco de deterioração cognitiva medida pelo *MMSE* e a maior risco de défice no *9HPT* e na medida MA respostas corretas;

- b) O aumento da escolaridade diminui significativamente o risco de défice nas medidas MA respostas corretas, *AVLT* imediato e *AVLT* rec. A escolaridade mais baixa mantém-se associada a menor risco de défice no teste FVL.

A investigação da escolaridade como variável moduladora de disfunção cognitiva foi iniciada quando os resultados preliminares da comparação do desempenho cognitivo (ajustado para o sexo, a idade e a escolaridade) de 2 grupos de doentes com níveis de escolaridade diferentes mostraram diferenças estatisticamente significativas na percentagem de défice em diferentes medidas NP (quadro 11). O grupo de doentes com baixa escolaridade (≤ 9 anos, Grupo 1, N=166, 39,6%) apresenta percentagens de défice em diversas medidas NP (MA tempo, *WCST* erros, MA respostas corretas, *AVLT* imediato e *AVLT* rec) e de disfunção cognitiva moderada significativamente superiores ($p < 0,05$) às do grupo de doentes com elevada escolaridade (> 9 anos; Grupo 2; N=253; 60,4%). A exceção foi para o teste de FVL em que a percentagem é significativamente superior no grupo 2 comparativamente ao grupo 1 (grupo 1 vs grupo 2: 5% vs 15%; $p=0,003$) (quadro 11);

- c) O curso secundário progressivo (EM-SP) está associado a um aumento significativo do risco de défice no *9HP*, no *AVLT* (*AVLT* imediato, *AVLT* 30 e *AVLT* rec), na RF e a um maior risco de disfunção cognitiva moderada. O curso primariamente progressivo (EM-PP) está associado a maior risco de défice no teste RF;
- d) Pontuações mais elevadas no *EDSS* aumentam o risco de deterioração cognitiva medida pelo *MMSE* e de défice nas medidas *9HPT*, MA tempo, MA respostas corretas, *AVLT* imediato, *AVLT* 30, *AVLT* rec, *TC*, RF e maior risco de disfunção cognitiva moderada;
- e) Pontuações mais elevadas no *MSSS* aumentam significativamente o risco de deterioração cognitiva medida pelo *MMSE*, de défice no *9HPT* e de défice nas medidas MA tempo, MA respostas corretas e *TC* e a maior risco de disfunção cognitiva moderada;
- f) Pontuações elevadas de depressão (*HADS* d) mantêm-se associadas a défice nos testes *9HPT* e FVL;
- g) Por último, os doentes do sexo masculino mantêm um risco aumentado de défice no *TC*, mesmo ajustando para as outras variáveis.

Quadro 5 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de deterioração cognitiva (*MMSE*) e de déficit na destreza manual (*9HPT*)

	Regressão Logística Simples	Regressão Logística Múltipla	
		Modelo 1	Modelo 2
MMSE (Deterioração cognitiva)	Idade (OR=1,056; IC95%=1,027-1,085; $p < 0,001$) Escolaridade (OR=0,362; IC95%=0,194-0,676; $p=0,001$) Duração da doença (OR=1,060; IC95%=1,068-1,093; $p < 0,001$) Curso: EM-SP (OR=4,935; IC95%=2,305-10,568; $p < 0,001$) EM-PP (OR=2,690; IC95%=1,131-6,396; $p=0,025$) <i>EDSS</i> (OR=1,510; IC95%=1,300-1,753; $p < 0,001$) <i>MSSS</i> (OR=1,293; IC95%=1,149-1,454; $p < 0,001$) <i>HADS d</i> (OR=1,917; IC95%=1,406-2,615; $p < 0,001$)	<i>EDSS</i> (OR ajustado=1,489; IC95%=1,280-1,733; $p < 0,001$)	Idade (OR ajustado=1,039; IC95%=1,008-1,071; $p=0,013$) <i>MSSS</i> (OR ajustado=1,237; IC95%=1,090-1,403; $p=0,001$)
9HPT	Idade (OR=1,065; IC95%=1,044-1,086; $p < 0,001$) Escolaridade (OR=0,638; IC95%=0,428-0,951; $p=0,027$) Duração da doença (OR=1,121; IC95%=1,087-1,156; $p < 0,001$) Curso: EM-SP (OR=8,894; IC95%=4,123-19,189; $p < 0,001$) EM-PP (OR=5,908; IC95%=2,916-11,972; $p < 0,001$) <i>EDSS</i> (OR=2,060; IC95%=1,792-2,368; $p < 0,001$) <i>MSSS</i> (OR=1,433; IC95%=1,317-1,560; $p < 0,001$) <i>HADS d</i> (OR=1,843; IC95%=1,487-2,284; $p < 0,001$)	Duração da doença (OR ajustado=1,046; IC95%=1,010-1,083; $p=0,012$) <i>EDSS</i> (OR ajustado=1,997; IC95%=1,704-2,340; $p < 0,001$) <i>HADS d</i> (OR ajustado=2,352; IC95%=1,177- 4,700; $p < 0,016$)	Idade (OR ajustado=1,040; IC95%=1,017-1,064; $p=0,001$) Curso: EM-SP (OR ajustado=2,845; IC95%=1,173-6,897; $p=0,021$) <i>MSSS</i> (OR ajustado=1,307; IC95%=1,178-1,449; $p < 0,001$) <i>HADS d</i> (OR ajustado=2,637; IC95%=1,242-4,514; $p=0,009$)

Modelo 1: se incluir *EDSS* e/ou duração da doença na lista das variáveis significativas na análise de regressão logística simples; **Modelo 2:** se incluir *MSSS* na lista das variáveis significativas na análise de regressão logística simples; **Método de seleção de variáveis:** *Forward stepwise*

Quadro 6: Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de disfunção em medidas de velocidade psicomotora e exploração visual

	Regressão Logística Simples	Regressão Logística Múltipla	
		Modelo1	Modelo 2
MA tempo	Idade (OR=1,025; IC95%=1,005-1,045; $p=0,016$) Escolaridade (OR=0,453; IC95%=0,290-0,710; $p=0,001$) Duração de doença (OR=1,049; IC95%=1,022-1,077; $p < 0,001$) Curso: EM-SP (OR=2,284; IC95%=1,336-5,969, $p=0,007$) EM-PP (2,537; IC95%=1,245-5,168, $p=0,01$) <i>EDSS</i> (OR=1,472; IC95%=1,309-1,655; $p < 0,001$) <i>MSSS</i> (OR=1,233; IC95%=1,132-1,343; $p < 0,001$)	<i>EDSS</i> (OR ajustado=1,48; IC95%= 1,316-1,675; $p < 0,001$)	<i>MSSS</i> (OR ajustado =1,248; IC95%=1,440-1,362; $p < 0,001$)
MA respostas corretas	Idade (OR=1,055; IC95%=1,030-1,081; $p < 0,001$) Escolaridade (OR=0,335; IC95%=0,200-0,560; $p < 0,001$) Duração de doença (OR=1,055; IC95%=1,026-1,084; $p < 0,001$) Curso (EM-SP: OR=4,152; IC95%=2,021-8,643; $p < 0,001$; EM- PP: 3,998; IC95%=1,944-8,224; $p=0,001$) <i>EDSS</i> (OR=1,537; IC95%=1,348-1,752; $p < 0,001$) <i>MSSS</i> (OR=1,256; IC95%=1,141-1,383; $p < 0,001$)	Escolaridade (OR ajustado=0,494; IC95%=0,284-0,859; $p=0,013$) <i>EDSS</i> (OR ajustado=1,493; IC95%=1,302-1,711; $p < 0,001$)	Idade (OR ajustado=1,035; IC95%=1,008-1,063; $p=0,01$) Escolaridade (OR ajustado=0,502; IC95%=0,289-0,873; $p=0,015$) <i>MSSS</i> (OR ajustado=1,200; IC95%=1,082-1,332; $p=0,01$)

Modelo 1: se incluir *EDSS* e/ou duração da doença na lista das variáveis significativas na análise de regressão logística simples; **Modelo 2:** se incluir *MSSS* na lista das variáveis significativas na análise de regressão logística simples; **Método de seleção de variáveis:** *Forward stepwise*

Quadro 7 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de disfunção em medidas de funções executivas

	Regressão Logística Simples	Regressão Logística Múltipla
WCST categorias	Escolaridade (OR=0,562; IC95%=0,319-0,990; $p=0,046$)	-
WCST erros	Escolaridade (OR=0,383; IC95%=0,184-0,794; $p=0,001$)	-
FVL	Escolaridade (OR=3,013; IC95%=1,415-6,416; $p=0,004$) <i>HADS d</i> (OR=2,132; IC95%=1,013-4,887; $p=0,046$)	Escolaridade (OR ajustado=3,074; IC95%=1,435-6,584; $p=0,004$) <i>HADS d</i> (OR ajustado=2,290; IC95%=1,072-4,894; $p=0,032$)

Método de seleção de variáveis: *Forward stepwise*

Quadro 8 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de disfunção em medidas de memória

	Regressão Logística Simples	Regressão Logística Múltipla	
		Modelo1	Modelo 2
AVLT imediato	Idade (OR=1,034; IC95%=1,009-1,060; $p=0,007$) Escolaridade (OR=0,395; IC95%=0,227-0,687; $p=0,001$) Duração de doença (OR=1,046; IC95%=1,016-1,076; $p=0,002$) Curso: EM-SP (OR=4,709; IC95%=2,323-9,545; $p < 0,001$) EDSS (OR=1,378; IC95%=1,212-1,567; $p < 0,001$) MSSS (OR=1,200; IC95%=1,084-1,327; $p < 0,001$) HADS d (OR=2,164; IC95%=1,098-4,262; $p=0,026$)	EDSS (OR ajustado=1,384; IC95%=1,215-1,576; $p < 0,001$)	Escolaridade (OR ajustado=0,484; IC95%=0,270-0,868; $p=0,015$) Curso: EM-SP (OR ajustado=3,997; IC95%=1,908-8,375; $p < 0,001$)
AVLT 30	Idade (OR=1,033; IC95%=1,010-1,056; $p=0,005$) Duração de doença (OR=1,049; IC95%=1,021-1,077; $p < 0,001$) Curso: EM-SP (OR=3,777; IC95%=1,926-7,405; $p < 0,001$) EDSS (OR=1,277; IC95%=1,141-1,429; $p < 0,001$) MSSS (OR=1,117; IC95%=1,022-1,220; $p < 0,015$) HADS d (OR=1,971; IC95%=1,051-3,698; $p=0,035$)	EDSS (OR ajustado=1,276; IC95%=1,138-1,429; $p < 0,001$)	Curso: EM-SP (OR ajustado=3,709; IC95%=1,655-6,616; $p=0,001$)
AVLT rec	Idade (OR=1,045; IC95%=1,011-1,081; $p=0,01$) Escolaridade (OR=0,225; IC95%=0,097- 0,521; $p < 0,001$) Duração de doença (OR=1,051; IC95%=1,013-1,090; $p=0,009$) Curso: EM-SP (OR=7,242; IC95%=3,068-17,093; $p < 0,001$) EDSS (OR=1,417; IC95%=1,188-1,691; $p < 0,001$) MSSS (OR=1,217; IC95%=1,057-1,400; $p < 0,006$)	Escolaridade (OR ajustado=0,319; IC95%=0,134-0,563; $p=0,01$) EDSS (OR ajustado=1,355; IC95%=1,122-1,636; $p=0,002$)	Escolaridade (OR ajustado=0,274; IC95%=0,114-0,656; $p=0,004$) Curso: SP (OR ajustado=5,222; IC95%=2,103-12,965; $p < 0,001$)

Modelo 1: se incluir EDSS e/ou duração da doença na lista das variáveis significativas na análise de regressão logística simples; **Modelo 2:** se incluir MSSS na lista das variáveis significativas na análise de regressão logística simples; **Método de seleção de variáveis:** *Forward stepwise*

Quadro 9 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de disfunção em medidas de atenção, memória de trabalho e linguagem

	Regressão Logística Simples	Regressão Logística Múltipla	
		Modelo1	Modelo 2
TC	Sexo (OR=2,335; IC95%=1,260-4,448; $p=0,010$) Curso: EM-SP (OR=2,372; IC95%=1,070-5,592; $p=0,048$) EDSS (OR=1,252; IC95%=1,084-1,446; $p=0,002$) MSSS (OR=1,187; IC95%=1,056-1,335; $p=0,004$)	Sexo (OR ajustado=2,003; IC95%=1,033-3,882; $p=0,04$) EDSS (OR ajustado=1,180; IC95%=1,016-1,371; $p=0,03$)	Sexo (OR ajustado=2,036; IC95%=1,054-3,934; $p=0,034$) MSSS (OR ajustado=1,160; IC95%=1,031-1,306; $p=0,014$)
RF	Curso: EM-SP (4,606; IC95%=1,916-11,072; $p=0,001$) EM-PP (2,815; IC95%=1,050-7,548; $p=0,04$) EDSS (OR=1,359; IC95%=1,152-1,602; $p<0,001$) MSSS (OR=1,207; IC95%=1,058-1,378, $p=0,005$) HADS d (OR=2,601; IC95%=1,136-5,953; $p=0,024$)	EDSS (OR ajustado=1,344; IC95%=1,139-1,578; $p<0,001$)	Curso: EM-SP (OR ajustado=4,040; IC95%=1,631-10,008; $p=0,003$) EM-PP (OR ajustado=2,941; IC95%=1,093-7,913; $p=0,033$)

Modelo 1: se incluir EDSS e/ou duração da doença na lista das variáveis significativas na análise de regressão logística simples; **Modelo 2:** se incluir MSSS na lista das variáveis significativas na análise de regressão logística simples; **Método de seleção de variáveis:** *Forward stepwise*

Quadro 10 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de disfunção cognitiva moderada

	Regressão Logística Simples	Regressão Logística Múltipla	
		Modelo1	Modelo 2
Disfunção cognitiva moderada	Escolaridade (OR=0,522; IC95%=0,319-0,853; $p=0,009$) Curso: EM-SP (4,702; IC95%=2,416-9,142; $p < 0,001$) <i>EDSS</i> (OR=1,336; IC95%=1,192-1,498; $p < 0,001$) <i>MSSS</i> (OR=1,181; IC95%=1,080-1,293; $p < 0,001$) <i>HADS d</i> (OR=2,018; IC95%=1,075-3,789; $p=0,029$)	 <i>EDSS</i> (OR ajustado=1,327; IC95%=1,182-1,490; $p < 0,001$)	 Curso: EM-SP (OR ajustado=2,658; IC95%=1,220-5,790; $p=0,014$) <i>MSSS</i> (OR ajustado=1,126; IC95%=1,004-1,263; $p=0,042$)

Modelo 1: se incluir *EDSS* e/ou duração da doença na lista das variáveis significativas na análise de regressão logística simples; **Modelo 2:** se incluir *MSSS* na lista das variáveis significativas na análise de regressão logística simples; **Método de seleção de variáveis:** *Forward stepwise*

Quadro 11 - Comparação entre a frequência de défice em cada medida NP em doentes com baixa (Grupo 1 – escolaridade ≤ 9 anos) e elevada (Grupo 2 – escolaridade > 9 anos) escolaridade

Áreas avaliadas	Medidas Utilizadas	Grupo 1 N=166	Grupo 2 N=253	<i>p</i>
Velocidade psicomotora	MA tempo	60 (39%)	51 (22%)	<0,001^a
F. executivas	WCST categorias	34 (24%)	35 (16%)	0,056 ^a
	WCST erros	20 (13%)	13 (5%)	0,008^a
	FVL	9 (5%)	38 (15%)	0,003^a
Exploração visual	MA respostas corretas	46 (29%)	30 (12%)	<0,001^a
Memória	AVLT imediato	36 (22%)	25 (10%)	0,001^a
	AVLT 30	39 (23%)	41 (16%)	0,062 ^a
	AVLT rec	21 (13%)	8 (3%)	<0,001^a
Atenção e Memória de trabalho	MD	12 (8%)	25 (10%)	0,359 ^a
	TC	18 (11%)	24 (10%)	0,675 ^a
Linguagem	RF	18 (12%)	15 (6%)	0,05 ^a
Disfunção cognitiva moderada	$\geq 25\%$ dos testes alterados	42 (25%)	38 (15%)	0,009^a

^a Teste de Qui-quadrado

Discussão

A EM é reconhecidamente uma doença heterogénea, nos seus aspetos neurológicos e cognitivos. As manifestações clínicas mais comuns são visuais, sensitivas e motoras, sendo a avaliação e quantificação destes défices neurológicos feita através de medidas universais, de que é exemplo a escala *EDSS*. Apesar das limitações conhecidas da *EDSS*, o agravamento nesta escala é facilmente identificado pelo neurologista e este parâmetro é utilizado para avaliar a progressão da incapacidade e a resposta a determinada terapêutica, seja na prática clínica seja em ensaios clínicos. Inversamente, os défices cognitivos são menos comuns, mais difíceis de identificar e muitas vezes pouco valorizados pelos clínicos. No entanto, o impacto da disfunção cognitiva na qualidade de vida, na adaptação funcional do doente, na adesão ao tratamento farmacológico e à reabilitação física está bem estabelecido ^{170; 194; 268; 467-471}.

À semelhança do atingimento neurológico traduzido pelo valor de *EDSS*, a heterogeneidade do atingimento cognitivo, quanto à gravidade e ao padrão de disfunção cognitiva, é atualmente amplamente reconhecida. O substrato anatómico desse atingimento parece englobar dois tipos de processos: a) a inflamação e desmielinização comum a todos os doentes que pode certamente justificar em parte as diferenças de funcionamento cognitivo encontradas entre grupos de doentes e de controlos saudáveis; e b) fenómenos degenerativos que em doentes com disfunção cognitiva significativa podem traduzir-se numa síndrome demencial em cerca de 10% dos doentes ³. Esta percentagem é concordante com o resultado do nosso estudo (11% dos doentes apresentaram valores, numa escala de rastreio de deterioração cognitiva, no espectro característico de doentes com demência).

Na última década, vários estudos utilizando técnicas de RM (estruturais e funcionais) permitiram quantificar a patologia da EM ao nível macroscópico, incluindo envolvimento da *NAWM* e da substância cinzenta, e documentar a sua associação à disfunção cognitiva ⁷⁶. Mas as lesões neuropatológicas explicam apenas uma parte (aproximadamente 40%) das diferenças de disfunção cognitiva, levando assim alguns autores nos últimos anos a explorar o papel de outros moduladores do funcionamento cognitivo, tais como a reserva cognitiva. O conceito de reserva cognitiva postula que determinados estímulos mentais e físicos permitem manter e otimizar o funcionamento cognitivo ao longo da vida e atrasar ou proteger o aparecimento da disfunção cognitiva. A escolaridade é um dos indicadores de reserva cognitiva mais bem estudados na DA, sendo ainda poucos os estudos que abordaram esta questão na EM.

Objetivo 1 - Caracterização do funcionamento cognitivo numa população de doentes com EM e identificação das funções cognitivas mais suscetíveis à disfunção.

Este estudo confirma a presença de deterioração cognitiva em 11% dos doentes e de disfunção cognitiva moderada em 19% (25% em doentes com baixa escolaridade e 15% em doentes com alta escolaridade). Na literatura, a prevalência de disfunção cognitiva na EM varia entre 20% e 65%^{174; 179; 187; 190; 193; 196; 197}. A população do nosso estudo é composta por um elevado número de doentes com forma EM-RR (79%) e a mediana do *EDSS* é relativamente baixa [mediana=3 (0-7,5)]. Tendo em consideração estas características clínicas, a prevalência encontrada está de acordo com outros estudos com características clínicas semelhantes^{187; 190}. Por outro lado, cerca de metade (48,4%) da nossa população de doentes encontrava-se sob TMD e apesar de não estar completamente esclarecido o papel destes tratamentos na disfunção cognitiva^{211; 224}, existem dados que apontam para um potencial efeito benéfico^{211; 223; 224; 472}. Para além das características da população estudada, algumas das características da nossa bateria NP podem justificar o facto de termos encontrado uma frequência de disfunção cognitiva mais baixa, comparativamente a outras populações de doentes¹⁹³. Uma grande parte das investigações que exploraram este aspeto da EM utilizaram baterias com alta especificidade e sensibilidade para disfunção cognitiva na doença (por exemplo: *BRNB* e *MACFIMS*)^{174; 181; 192; 212; 297; 310; 312}. A bateria NP utilizada neste estudo permite a avaliação das áreas cognitivas reconhecidas como mais afetadas na EM, no entanto tem a desvantagem de ser desconhecida a sua sensibilidade no rastreio de disfunção cognitiva nesta doença. Recentemente, foi publicado um estudo com uma grande população de doentes (n=1500)¹⁹⁰, que utilizou uma bateria NP não específica para a EM e investigou os mesmos domínios cognitivos que a bateria NP utilizada no presente estudo e que reportou uma frequência de disfunção cognitiva semelhante à do presente estudo. Por último, a utilização de definições de défice mais conservadoras (nível de especificidade estimada de 95%) e de disfunção cognitiva moderada ($\geq 25\%$ das medidas com a classificação de défice tem uma especificidade de 97%) permitem dizer com elevada segurança que os doentes classificados com défice têm de facto défice cognitivo. A principal limitação do uso de pontos de corte exigentes é a diminuição da sensibilidade na identificação de défices ligeiros.

Os resultados da avaliação NP na nossa população de doentes revelam atingimento de vários domínios cognitivos, nomeadamente: velocidade psicomotora, exploração visual, memória, funções executivas e atenção. Não foram encontradas diferenças na frequência de défice no *WCST* (mede funções executivas) nos doentes e

nos controlos, à semelhança de outros estudos⁴⁷³⁻⁴⁷⁵. No entanto, existem investigações que obtiveram resultados diferentes^{269; 441; 476}. A ausência de défice no *WCST* pode estar relacionada com dois aspetos: a) as características da população estudada, maior proporção de doentes com curso EM-RR do que curso progressivo (EM-SP ou EM-PP) sendo conhecido da literatura que os défices executivos são mais comuns em doentes com forma progressiva^{290; 336; 474; 475; 477} e b) segundo alguns autores^{269; 336}, o *WCST* tem baixa sensibilidade para despiste de défice executivo em doentes com EM, comparativamente ao teste de FVL, o que está de acordo com o encontrado no nosso grupo de doentes.

O desempenho dos doentes em provas de atenção e linguagem (MD e RF) é semelhante ao desempenho dos controlos. O desempenho no teste MD é consistente com o descrito em outras populações de doentes^{177; 270; 339}, havendo no entanto estudos que encontraram défice neste teste em doentes com EM^{174; 238}. Por último, a preservação da linguagem, avaliada pelo teste de RF está de acordo com as conclusões de outros autores^{177; 178; 190} e suporta a relativa conservação das capacidades linguísticas nesta doença.

Neste estudo, a frequência de doentes com valores sugestivos de ansiedade patológica (25,8%) (considerando ponto de corte de ansiedade – *HADS* a ≥ 11), é concordante com o descrito na literatura, enquanto a frequência de depressão patológica observada (12%) (considerando ponto de corte de depressão – *HADS* d ≥ 11), é menor que o valor assinalado por outros autores^{194; 357; 478}. A frequência mais elevada de doentes com ansiedade do que com depressão pode estar relacionada com algumas das características da nossa população de doentes nomeadamente: a) mais de 1/3 (38%) estar em fase relativamente inicial ou precoce de EM (isto é com tempo de duração de doença ≤ 5 anos). Este é um período de doença em que o conhecimento atual não permite determinar um prognóstico individual e, assim, a “imprevisibilidade” é um importante e reconhecido motivo para níveis elevados de ansiedade nestes doentes¹⁶⁴; b) cento e cinquenta doentes incluídos no estudo (35,8%) estavam medicados com psicofármacos, na sua maioria antidepressivos (n=118), o que pode explicar a menor percentagem de doentes com sintomas depressivos do que sintomas ansiosos.

Assim, ainda que a frequência de disfunção cognitiva e depressão esteja abaixo do descrito em outras populações, o padrão cognitivo e comportamental não difere do descrito na literatura^{165; 166; 179; 194}.

Objetivo 2 - Explorar a associação da disfunção cognitiva e características demográficas e clínicas.

Os nossos resultados suportam a noção de que o risco de défice cognitivo na EM está negativamente associado à escolaridade e positivamente associado a medidas de incapacidade e gravidade neurológica (*EDSS* e *MSSS*) e ao curso secundário progressivo da doença (EM-SP).

A associação negativa entre escolaridade e défices em diferentes medidas NP, nomeadamente medidas de funções executivas, de exploração visual e de memória, encontrados na regressão logística simples e múltipla apontam a escolaridade como um importante fator preditivo de disfunção cognitiva. Nos últimos anos, foram publicados alguns estudos sobre o papel da reserva cognitiva nos doentes com EM ^{3; 387}. Assim, fatores como a inteligência pré-mórbida ³⁸⁹, a riqueza de vocabulário ³⁹³, a capacidade de leitura ³⁹⁴ e o tipo de ocupação ⁴¹¹ têm sido considerados como indicadores de reserva cognitiva. Estudos recentes demonstraram que indicadores mais elevados de reserva cognitiva na EM, medida por elevada inteligência pré-mórbida ou anos de escolaridade, são protetores de disfunção cognitiva ^{323; 324; 390; 391; 408}. No entanto, estas conclusões são difíceis de extrapolar para todas as populações dado que resultam da comparação entre grupos de doentes com médias de escolaridade superior a 12 anos e com diferentes definições de baixa escolaridade (por exemplo: para doentes Americanos baixa escolaridade corresponde a ≤ 14 anos; para Franceses corresponde a ≤ 12 anos e no presente estudo foram considerados doentes com baixa escolaridade os que tinham ≤ 9 anos ^{323; 324; 388; 389; 408; 411}).

No caso do teste FVL, a associação com a escolaridade é inversa, isto é, foi encontrada uma associação positiva entre défice e escolaridade. A frequência de défice (11%) é mais baixa do que a encontrada noutros estudos (percentagens de défice entre 15% e 25%) ^{179; 194}. O teste FVL é habitualmente considerado uma medida de funções executivas e de linguagem, havendo um efeito importante da idade e da escolaridade no desempenho deste teste ^{229; 479}. A análise por nível de escolaridade mostra que a percentagem de défice no teste FVL em doentes com escolaridade igual ou superior a 9 anos é de 15%, aproximando-se dos valores descritos noutras publicações ²²⁹. Nos doentes com baixa escolaridade a frequência de défice é apenas de 5%, sendo semelhante à dos controlos. A associação positiva entre défice e escolaridade pode estar relacionada com a validade do instrumento para níveis baixos de escolaridade. É possível que o teste FVL meça essencialmente linguagem em indivíduos com baixa escolaridade e que meça essencialmente funções executivas em indivíduos com elevada escolaridade.

Efeito semelhante foi encontrado noutras populações neurológicas portuguesas (por exemplo: doença de Huntington)⁴⁸⁰. Na nossa população de doentes, 40% dos indivíduos completaram apenas entre 3 e 9 anos de escolaridade. Esta frequência de baixa escolaridade é superior à de outros estudos^{336; 481}.

A incapacidade neurológica (medida pelo *EDSS*) e a gravidade neurológica (medida pelo *MSSS*) apresentam-se como preditivas de deterioração cognitiva avaliada pelo *MMSE*, de défice cognitivo em diversas medidas da bateria NP e de disfunção cognitiva moderada, mesmo quando controlado para covariáveis demográficas e clínicas. Os resultados obtidos na *EDSS* são consistentes com os de outros estudos^{180; 187; 192; 348; 349} e apontam para a existência de uma associação entre disfunção física e cognitiva. Relativamente ao *MSSS*, medida de gravidade da doença que traduz um valor de incapacidade neurológica tendo em conta a duração da doença e que tem sido aplicada apenas nos últimos anos⁴³², ainda não foi testada até ao momento como possível variável de importância preditiva de disfunção cognitiva.

O curso secundário progressivo de doença associa-se a um risco aumentado de défice em medidas de memória (*AVLT* imediato, *AVLT* 30 e *AVLT* rec), de linguagem (RF) e de disfunção cognitiva moderada mesmo quando controlado para covariáveis demográficas e clínicas. Os nossos resultados são comparáveis aos encontrados por outros autores, isto é, revelam que a disfunção cognitiva é mais severa na EM-SP e sugerem que parte da heterogeneidade desta disfunção, quer na sua magnitude e quer no seu padrão, se relacione com diferentes cursos de doença.^{180; 328-334; 482; 483} Os doentes com EM-PP também apresentaram um risco acrescido de défice no teste RF comparativamente aos doentes com EM-RR. O facto do risco de défice na medida RF ser mais elevado em doentes com EM-SP e EM-PP está de acordo com o facto das formas progressivas de doença serem mais suscetíveis à ocorrência de défices linguísticos, tal como foi apontado por outros autores^{481; 484}.

O nosso estudo também revelou associações entre sintomatologia depressiva, variáveis demográficas (idade e sexo) e défice nalgumas medidas NP. Valores elevados de depressão encontram-se associados a aumento do risco de défice evidenciado em medidas de destreza manual (*9HPT*) e de funções executivas (FVL). A associação ao *9HPT* não se encontra referida na literatura revista à data de redação desta tese. Dado que o *9HPT* não é apenas uma medida cognitiva mas também uma importante medida motora, esta associação significativa está de acordo com a relação conhecida entre incapacidade neurológica e depressão³¹⁹. A associação entre depressão e FVL, mesmo controlando para o efeito da escolaridade, também é concordante com estudos que

revelaram que a depressão está associada a um pior desempenho em provas que medem funções executivas^{273; 319; 483}.

Nos nossos doentes, a idade associa-se positivamente à deterioração cognitiva medida pelo *MMSE*, ao défice na destreza manual (*9HPT*) e ao défice na exploração visual (MA respostas corretas) mesmo com valores já ajustados para as características demográficas (incluindo idade) e mesmo quando controlado para covariáveis clínicas. A idade como fator de risco para disfunção cognitiva na EM ainda não está esclarecida, mas poderá estar relacionada com uma menor capacidade de recrutamento ou plasticidade cerebral nos doentes mais velhos, mecanismo conhecido como relevante para manter e otimizar o desempenho cognitivo à medida que a idade avança^{485; 486}.

Os doentes do sexo masculino apresentam uma frequência de défice mais elevada no *TC*, mesmo quando controlado para outras variáveis demográficas e clínicas. A associação do sexo masculino a um pior desempenho cognitivo tem sido encontrada em diversos estudos^{311; 320; 323}. Estas diferenças podem estar relacionadas com diversos aspetos nomeadamente com: a) diferenças de conectividade e eficiência das redes neuronais nos doentes do sexo feminino e masculino^{321; 487; 488}; b) as sequelas cognitivas da doença, à semelhança do que ocorre para incapacidade neurológica, são mais graves nos doentes do sexo masculino e assim este fator poderá influenciar o prognóstico global da doença^{311; 320-322}; e c) a alta prevalência de mulheres com EM pode influenciar os resultados^{489; 490}. No entanto, é importante referir que na população saudável o desempenho no *TC* é consistentemente superior em sujeitos do sexo masculino em comparação com os do sexo feminino^{491; 492}. Em concordância com este conhecimento da literatura, no presente estudo, o ajustamento para a variável sexo (com base nos coeficientes de regressão dos controlos saudáveis) foi mais “exigente” para os doentes do sexo masculino do que para as doentes do sexo feminino. Tendo em conta as diferenças entre sexos e a reduzida amplitude de pontuações possíveis, é provável que as pontuações ajustadas do *TC* tenham uma sensibilidade e uma especificidade diferentes para homens e para mulheres. Estas características psicométricas do instrumento limitam a interpretação das diferenças entre sexos encontrada neste estudo. Reconhece-se também que a discrepância entre a frequência de homens e mulheres no grupo controlo poderá ter produzido enviesamentos nos coeficientes de regressão usados para o cálculo das pontuações ajustadas.

A influência do tratamento, seja da TMD seja dos psicofármacos, no desempenho cognitivo não foi possível avaliar dada a variabilidade do tipo de tratamento e da sua duração. Apesar de estar documentada a existência de uma melhoria do desempenho

cognitivo associado a TMD ^{211; 224}, o conhecimento sobre o papel da terapêutica no padrão cognitivo e na progressão da disfunção cognitiva é ainda muito escasso ²¹¹.

Este estudo tem algumas limitações nomeadamente: a) foi usada apenas a escolaridade como indicador de reserva, outros indicadores como inteligência pré-mórbida e a capacidade de leitura poderiam permitir melhor quantificação da reserva cognitivas dos indivíduos; b) a população do estudo é constituída essencialmente por doentes com uma incapacidade neurológica relativamente baixa (*EDSS* mediana =3,0); c) outras características, tais como hábitos de vida saudável (por exemplo: dieta equilibrada, exercício físico) importantes para a evolução cognitiva de indivíduos saudáveis não foram analisadas neste estudo; e d) não foi possível avaliar a relação entre marcadores imagiológicos (exemplo: carga lesional em T2, T1, atrofia cerebral) e o funcionamento cognitivo.

Em resumo, nos doentes alvo deste estudo, o padrão de disfunção cognitiva, a associação entre défices em diversos domínios cognitivos e variáveis clínicas, nomeadamente incapacidade neurológica, gravidade de doença e curso de doença, está de acordo com o que descrito na literatura ^{3; 165; 194}. Os resultados da escolaridade enquanto variável preditiva de disfunção cognitiva na EM são semelhantes a outros estudos ^{324; 390; 393}. No entanto, a maior amplitude de níveis de escolaridade na população portuguesa e a universalidade do acesso aos cuidados de saúde (diagnóstico e tratamento dos doentes com EM em instituições do Sistema Nacional de Saúde) permite evidenciar o papel da escolaridade como marcador de reserva cognitiva na EM.

2.3. ESTUDO 3

Contextualização

Como referido na Revisão da Literatura, secção 1.4.4, a identificação dos cheiros tem vindo a ser utilizada como instrumento de avaliação de funções cognitivas em várias doenças neurológicas. Neste contexto desenvolvemos o estudo 3.

Em 2009, foram iniciados estudos de aferição e validação de um teste de identificação de cheiros (*Brief Smell Identification Test - B-SIT*), no Laboratório de Neurobiologia do Comportamento do CHP-HSA. Trata-se de um teste de administração rápida, no qual é pedido ao sujeito para identificar 12 odores diferentes entre 4 escolhas possíveis. Este teste foi utilizado para explorar a disfunção olfativa na EM e a sua relação com características clínicas (por exemplo: o curso da doença, aspetos psicopatológicos e cognitivos), relação essa que não está ainda esclarecida e por isso foi proposto, no âmbito desta tese, adicionar este teste à bateria NP de um subgrupo de doentes.

Objetivos específicos:

- 1) Avaliar a capacidade de identificação de cheiros numa amostra de doentes, através do *B-SIT*;
- 2) Explorar possíveis associações entre desempenho olfativo e características demográficas e clínicas.

Hipótese a testar: A perturbação olfativa está associada a medidas de incapacidade neurológica e ao curso da doença.

Sujeitos e Procedimentos

Para testar esta hipótese, o *B-SIT*, o *MMSE* e a *HADS* foram administrados a 153 doentes com EM [107 mulheres; idade (média) = $41,91 \pm 11,28$]; escolaridade (média) = 10,95 anos $\pm 4,68$; 121 EM-RR, 16 EM-SP e 16 EM-PP; duração da doença (média) = 11,6 anos $\pm 8,5$; *EDSS* (média) = $2,92 \pm 2,25$]; *MMSE* (média) = $28,5 \pm 2,03$] e 165 sujeitos saudáveis com características demográficas comparáveis. Foram utilizados testes não paramétricos para as comparações entre grupos e foi realizada uma regressão

logística múltipla para identificar as variáveis demográficas e clínicas associadas ao défice olfativo nos doentes com EM.

Resultados

O distúrbio olfativo ($B-SIT \leq 8$) é mais frequente ($p=0,007$) nos doentes (11,1%) do que nos sujeitos saudáveis (3%) e também é mais frequente ($p<0,001$) no curso EM-SP (11/16; 68,8%) do que nos cursos EM-RR (4/121; 3,3%) e EM-PP (2/16; 12,5%). A associação entre o curso EM-SP e o distúrbio olfativo manteve-se estatisticamente significativa mesmo quando controlada para as variáveis demográficas (idade e escolaridade), clínicas (duração de doença, *EDSS* e *MSSS*), psicopatológicas (*HADS* ansiedade e depressão) e cognitivas (*MMSE*).

Conclusões

Como conclusões deste estudo 3 pode afirmar-se que existem dificuldades olfativas nos doentes com EM e que os resultados apontam para uma forte associação entre funcionamento olfativo e curso de doença.

Este estudo foi publicado na revista científica Multiple Sclerosis 2012: Silva AM, Santos E, Moreira I, Bettencourt A, Coutinho E, Gonçalves A, Pinto C, Montalban X, Cavaco S. "Olfactory dysfunction in multiple sclerosis: association with secondary progression Mult Scler. 2012 May;18(5):616-621. doi.org/10.1177/1352458511427156 (Capítulo 5, anexos).

2.4. ESTUDO 4

Contextualização

Dadas as implicações que uma doença crónica como a EM tem no comportamento e humor dos doentes, nomeadamente a nível de perturbações do humor e do afeto ^{164; 167; 493}, foram explorados no estudo 4 os sintomas de ansiedade e de depressão dos doentes de forma transversal.

A depressão é a perturbação psiquiátrica mais frequente, sendo a sua patofisiologia provavelmente de natureza multifatorial, envolvendo fatores psicossociais e biológicos ^{164; 355; 367; 494}. A associação entre as características psicopatológicas e variáveis demográficas e clínicas é ainda pouco compreendida ⁴⁹⁵.

Objetivos específicos:

- 1) Analisar a sintomatologia psicopatológica numa amostra de doentes através de um questionário de auto-resposta – *HADS*;
- 2) Explorar possíveis associações entre sintomas de ansiedade e de depressão e características demográficas e clínicas nestes doentes.

Hipótese a testar: A sintomatologia psicopatológica na EM está associada a variáveis demográficas e a medidas de incapacidade neurológica.

Sujeitos e Procedimentos

Para testar esta hipótese foram estudados 312 doentes com EM [205 mulheres; idade (média) = 39,5 anos \pm 10,8; escolaridade categorizada (baixa \leq 9 anos – 82 (26,3%); elevada > 9 anos – 230 (73,7%); 251 EM-RR, 31 EM-SP, 30 EM-PP; duração da doença (média) = 9,32 anos \pm 7,78; *EDSS* (média) = 2,8 \pm 2,2; *MSSS* (média) = 3,7 \pm 2,7] e 183 sujeitos saudáveis com características demográficas comparáveis [123 mulheres; idade (média) = 39,6 \pm 10,8; escolaridade categorizada (baixa \leq 9 anos – 49 (26,8%); elevada > 9 anos – 134 (73,2%) que responderam à *HADS*. Para o estudo foram usadas a regressão linear simples e múltipla, a análise multivariada de covariância e a

regressão logística múltipla para explorar os efeitos de variáveis demográficas e clínicas nas pontuações da *HADS*.

Resultados

Os doentes [ansiedade (média) = $7,9 \pm 4,3$; depressão (média) = $5,6 \pm 4,0$] apresentaram índices de ansiedade e de depressão significativamente mais elevados ($p < 0,001$) do que os sujeitos saudáveis [ansiedade (média) = $6,0 \pm 3,7$; depressão (média) = $3,8 \pm 3,2$]. Foram também encontradas associações positivas entre os índices de depressão e as variáveis idade, duração da doença, idade de início, *EDSS* e *MSSS*. Verificou-se ainda que a menor escolaridade (i.e. ≤ 9 anos) estava associada a maior sintomatologia ansiosa e depressiva. Os doentes com *EDSS* > 3 apresentavam um risco superior de depressão patológica (ponto de corte de depressão usado neste estudo foi *HADS* $d \geq 11$) do que os doentes com *EDSS* ≤ 3 ($p=0,047$, OR ajustado=2,34 e IC95%=1,01-5,40), quando controlados para o sexo, a idade, a escolaridade e a duração de doença.

Conclusões

Os resultados confirmaram a alta prevalência de ansiedade e depressão em doentes com EM. A associação entre índices de depressão e incapacidade neurológica medida pelo *EDSS* sugere que esta perturbação do humor pode ter também um substrato orgânico.

Este estudo foi publicado na revista científica *Journal of the Neurological Sciences*, 2011 - Martins da Silva Ana, Vilhena E, Lopes A, Santos E, Gonçalves MA, Pinto C, Moreira I, Mendonça D, Cavaco S. "Depression and anxiety in a Portuguese MS population: associations with physical disability and severity of disease." *Journal of the Neurological Sciences*. 2011; 306: 66 – 70 (Capítulo 5, anexos).

CAPÍTULO 2 (Segunda Parte) – ESTUDO LONGITUDINAL

ESTUDO LONGITUDINAL

2.5. ESTUDO 5

Após a caracterização do funcionamento cognitivo na nossa população de doentes e explorada a relação da disfunção cognitiva com características demográficas e clínicas, foi estudada a evolução do funcionamento cognitivo ao longo de três anos, tendo subjacente um conjunto de questões a que gostaríamos de responder:

- a) Será que existe, nestes doentes, declínio cognitivo significativo num período de três anos?
- b) Em caso afirmativo, haverá variáveis genéticas (alelo *HLA-DRB1*15:01* e alelo *ApoE ε4*), demográficas (sexo, idade e escolaridade) e/ou clínicas à data de início do estudo (idade de início da doença, número de surtos nos primeiros dois anos, duração da doença, curso da doença, incapacidade neurológica medida pelo *EDSS*, gravidade da incapacidade neurológica medida pelo *MSSS* e existência ou não de disfunção cognitiva moderada) preditivas de declínio cognitivo?
- c) Haverá fatores que influenciem a relação entre incapacidade neurológica e declínio cognitivo?

Hipóteses a testar:

- i. À semelhança da evolução neurológica, a evolução do funcionamento cognitivo nos doentes com EM é heterogénea, podendo haver doentes com declínio cognitivo significativo e outros em que o desempenho cognitivo se mantém relativamente estável num período de 3 anos;
- ii. O alelo *HLA-DRB1*15:01*, que sabemos associado a melhor prognóstico neurológico¹²⁷, está também associado a menor declínio cognitivo;
- iii. As variáveis demográficas e clínicas (por exemplo sexo, idade de início e curso à data de início do estudo) de prognóstico precoce de incapacidade ou gravidade neurológica são preditivas de declínio cognitivo;
- iv. A menor escolaridade, a presença de disfunção cognitiva moderada inicial e o curso progressivo de doença à data de início do estudo são preditivos de declínio cognitivo;

- v. Níveis elevados de incapacidade ou gravidade neurológica (*EDSS* ou *MSSS*) são preditivos de declínio cognitivo e de declínio na destreza manual;
- vi. Nos doentes com EM-RR, a relação entre incapacidade neurológica e declínio cognitivo está dependente do tempo de duração da doença.

Sujeitos

Foram estudados 176 doentes com EM. Este grupo corresponde a um subgrupo (38%) da amostra inicial de doentes que participaram nos estudos transversais 1 e 2 desta tese (número total=419). Os doentes foram incluídos de forma consecutiva no estudo numa consulta regular de seguimento três anos após a avaliação inicial (intervalo de tempo médio entre avaliações de 3,04 anos ($dp=0,22$) (quadro 12). Os principais motivos de não inclusão da totalidade dos doentes que participaram no estudo transversal foram: a) período de seguimento insuficiente, isto é intervalo de tempo entre avaliação inicial e data final de recolha de dados inferior a três anos; b) doentes com surto ou outra intercorrência médica à data da consulta final dos três anos de seguimento; c) doentes que não tiveram consulta agendada ou não compareceram à visita aos 3 anos de seguimento; d) recusa dos doentes em realizar a avaliação NP aos três anos de seguimento. A amostra de doentes incluídos englobou doentes com diferentes cursos de doença, nomeadamente EM-RR, EM-SP e EM-PP (quadro 13).

O grupo controlo foi constituído por 55 sujeitos saudáveis recrutados na comunidade, sem doença neurológica ou psiquiátrica e que realizaram a mesma bateria NP em dois momentos com intervalo de tempo médio entre avaliações de 3,49 anos ($dp=0,16$). Este grupo de controlo corresponde a um subgrupo (35%) da amostra de sujeitos saudáveis usados no estudo transversal.

Procedimentos

Todos os sujeitos do estudo longitudinal fizeram avaliação NP em dois momentos, com um intervalo de tempo entre avaliações de aproximadamente três anos. O quadro 12 resume os principais procedimentos a que foram submetidos tanto os doentes como os sujeitos do grupo controlo na avaliação inicial e na avaliação final.

Quadro 12 - Resumo dos principais procedimentos realizados no âmbito do estudo

Procedimentos	Avaliação Inicial		Avaliação final	
	Doentes	Controlos	Doentes	Controlos
Consentimento informado	X	X		
Recolha de dados demográficos (Sexo, idade, escolaridade)	X	X	X	X
Recolha de dados clínicos	X		X	
Calculo <i>EDSS</i>	X		X	
Cálculo do <i>MSSS</i> e IP	X		X	
Cálculo do <i>MMSE</i>	X			
Aplicação do <i>9HPT</i>	X	X	X	X
Aplicação da Bateria NP	X	X	X	X
Recolha de sangue para estudos genéticos	X			

As autorizações, os consentimentos e os procedimentos utilizados para a recolha dos dados clínicos, as avaliações neurológicas e NP, realização dos estudos genéticos encontram-se descritos no capítulo 2 – primeira parte, estudos 1 e 2, secção procedimentos.

Análise estatística

Os métodos estatísticos usados para a análise dos resultados e com objetivo de responder às questões formuladas englobaram:

1. O *Reliable Change Index (RCI)* que foi usado para explorar a evolução do funcionamento cognitivo e do *9HPT* dos doentes com EM após três anos de seguimento. O *RCI*⁴⁹⁶ permite avaliar se as diferenças individuais de desempenho entre a avaliação inicial e a avaliação final são estatisticamente significativas, ou seja, se são superiores ao erro da medição. Num doente, a diferença entre avaliações é considerada

significativa se for superior ao padrão esperado da diferença entre medições encontrada no grupo controle. Neste estudo foi usada a fórmula do *RCI* adaptada por *Chelune* e colaboradores ⁴⁹⁷. Além de corrigir para o erro da medição, esta fórmula adaptada permite corrigir para o “efeito da prática”. Foi utilizado o teste de *Mann-Whitney* para comparar os valores de *RCI* dos controles com baixa e elevada escolaridade.

Para definir declínio significativo foi considerado o intervalo de confiança de 68% à volta da média (o *RCI* médio é 0 e corresponde à média da diferença entre a avaliação inicial e a avaliação dos controles). Assim, foi considerado declínio cognitivo numa determinada medida NP e declínio significativo no *9HPT* quando o *RCI* era menor ou igual a -1 (ou seja, percentil ≤ 16 dos controles). Foi também classificado com declínio significativo no *9HPT* quando o sujeito não foi capaz de completar a tarefa num ou nos dois momentos de avaliação. Foi considerado existir declínio cognitivo moderado quando o sujeito apresentou declínio cognitivo significativo em pelo menos 25% das medidas NP.

2. A regressão logística (simples e múltipla) foi utilizada para estudar a influência de variáveis genéticas, demográficas e clínicas no declínio cognitivo num período de três anos e para estudar a relação entre declínio cognitivo e declínio neurológico.

As variáveis dependentes em estudo foram:

- a) Declínio significativo no *9HPT* (de acordo com a definição acima descrita);
- b) Declínio cognitivo significativo numa determinada medida NP (de acordo com a definição acima descrita);
- c) Declínio cognitivo moderado (de acordo com a definição acima descrita).

As variáveis independentes estudadas foram:

- a) As características demográficas: sexo, idade à data da avaliação inicial e escolaridade;
- b) Os dados clínicos à data da avaliação inicial: idade de início da doença, curso de doença, intervalo de tempo entre 1º e 2º surto, número de surtos nos dois primeiros anos, *EDSS*, *MSSS*, duração de doença, disfunção cognitiva moderada inicial;
- c) Os fatores genéticos: alelo *HLA-DRB1*15:01* e alelo *ApoE ε4*.

A escolha destas variáveis clínicas foi feita com base na relevância clínica já conhecida para o prognóstico de doença e para o desempenho cognitivo. As variáveis escolaridade, curso de doença e disfunção cognitiva moderada inicial foram assim categorizadas: escolaridade (0-escolaridade \leq 9 anos, 1-escolaridade $>$ 9 anos); curso de doença (0-EM-RR; 1-EM-SP; 2-EM-PP) e disfunção cognitiva moderada inicial (0: menos de 25% das medidas da bateria NP com déficit ou 1: 25% ou mais das medidas da bateria NP com déficit).

A escolha das variáveis independentes para a análise de regressão logística múltipla baseou-se na presença de associação significativa na análise de regressão logística simples ($p < 0,05$). O método de seleção de variáveis escolhido nesta regressão logística múltipla foi o *forward stepwise*. Quando se verificou associação significativa na análise de regressão simples com o *MSSS* e o *EDSS*, foram utilizados dois modelos de regressão múltipla uma vez que o *MSSS* é calculado com base no *EDSS* e na duração de doença.

3. A *Receiver operating characteristic curve* (curva de ROC) foi usada para identificar a capacidade preditiva de declínio cognitivo (ou seja, sensibilidade e especificidade), das variáveis clínicas iniciais *EDSS* e *MSSS*, para três subgrupos de doentes EM-RR, de acordo com a duração da doença:

- Grupo 1: doentes com tempo de duração de doença \leq cinco anos (Grupo A: n=53);
- Grupo 2: doentes com tempo de duração de doença entre seis e dez anos (Grupo B: n=42);
- Grupo 3: doentes com duração de doença $>$ dez anos (Grupo C: n=42).

Estes intervalos de duração de doença foram escolhidos com base nos previamente utilizados na literatura^{182; 190}.

Todas as análises foram efetuadas utilizando o programa de análise estatística de dados *SPSS®* v.21.0.

Resultados

As características genéticas, demográficas e clínicas do grupo de doentes encontram-se descritas nos quadros 13 e 14. O grupo controlo era constituído por 38 mulheres (69%) e 17 homens (31%), com uma mediana de idade de 45 anos (intervalo: 20-66 anos) e por 11 sujeitos (20%) com escolaridade baixa (≤ 9 anos de escolaridade) e 44 sujeitos (80%) com escolaridade elevada (> 9 anos de escolaridade). Os grupos eram semelhantes quanto ao sexo, mas diferentes em termos de idade e escolaridade ($p < 0,05$). Os controlos eram mais velhos e tinham mais escolaridade do que o grupo clínico. Uma vez que os grupos são diferentes quanto à escolaridade, procedeu-se à comparação entre controlos com baixa escolaridade e controlos com elevada escolaridade do *RCI* nas diferentes medidas cognitivas. Não foram encontrados efeitos significativos da escolaridade no *RCI* dos controlos ($p > 0,1$). Desta forma, considerou-se que os valores de referência do *RCI* dos controlos são válidos para indivíduos com baixa e elevada escolaridade.

Quadro 13 - Características sociodemográficas, clínicas e genéticas dos doentes

Doentes (total=176)	
Idade , mediana (intervalo)	39 (18-65)
Sexo , (♀/♂)	116/60
Escolaridade	
Baixa ≤9 anos, nº sujeitos (%)	78 (44,3%)
Elevada > 9anos, nº sujeitos (%)	98 (55,7%)
Estatuto profissional (nº sujeitos, %)	
- Ativo	108 (61%)
- Reformado	34 (19%)
- Pensão invalidez	4 (2%)
- Desempregado	10 (6%)
- Doméstica	15 (9%)
- Estudante	5 (3%)
Idade de início , mediana (intervalo)	28 (10-55)
MMSE , mediana (intervalo)	29 (22-30)
MMSE , nº doentes com défice (%)	20 (11,4%)
Presença de alelo HLA-DRB1*15:01^c , 169 sujeitos estudados	36,1% (61)
Presença de alelo ApoE ε4^c , 163 sujeitos estudados	22,1% (36)

^c Frequência genotípica

Em comparação com a avaliação inicial (quadro 14), à data da avaliação final foram encontradas algumas variações nas características clínicas do grupo de doentes: nove doentes EM-RR evoluíram para EM-SP (corresponde a 6,6%), as pontuações no *EDSS* e *MSSS* tiveram um discreto aumento. O número de doentes com a TMD aumentou da avaliação inicial (97 doentes, o que corresponde a 55% do total) para a avaliação final (123 doentes, que corresponde a 70%) (quadro 14).

Quadro 14 - Características clínicas do grupo dos doentes

	Avaliação inicial	Avaliação final
Duração de doença , mediana, em anos, (intervalo)	7 (1-39)	10,0 (3-43)
Curso de doença		
EM-RR	137 (78%)	128 (73%)
EM-SP	22 (12%)	31 (17%)
EM-PP	17 (10%)	17 (10%)
Intervalo de tempo entre 1º e 2º surto , mediana, em meses (n=135)	15 (2-192)	
Nº surtos nos 2 primeiros anos , mediana, em meses (n=135)	2(1-5)	
EDSS , mediana (intervalo)	3,0 (0-7,5)	3,5 (0-8,0)
Índice de progressão , mediana (intervalo)	0,32 (0-4,5)	0,29 (0-1,5)
MSSS , mediana (intervalo)	3,5 (0,11-9,35)	4,2 (0,09-9,6)
Doentes com TMD , nº de doentes (%)	97 (55%)	123 (70%)

Objetivo 1 - Explorar a evolução do funcionamento cognitivo ao longo de três anos.

A percentagem de doentes com declínio significativo no teste de destreza manual (9HPT) foi de 16%, correspondendo a 28 doentes. A frequência de doentes com declínio cognitivo, isto é com *RCI* menor ou igual a -1, em cada uma das medidas NP encontra-se descrita no quadro 15. As medidas de memória, nomeadamente as medidas *AVLT* rec e *AVLT* imediato, o teste de linguagem (RF) e as medidas de velocidade psicomotora e

exploração visual (MA tempo e MA respostas corretas) foram as medidas da bateria NP com maior frequência de declínio cognitivo, em oposição às medidas de atenção e memória de trabalho (testes MD e TC), que obtiveram frequências mais baixas (quadro 15).

Quadro 15 - Frequência de declínio cognitivo em cada medida NP

Áreas avaliadas	Medidas utilizadas	Doentes avaliados	Doentes com declínio (%)
Velocidade psicomotora	MA tempo	170	35 (21%)
F. executivas	WCST categorias	168	31 (19%)
	WCST erros	168	27 (16%)
	FVL	170	24 (14%)
Exploração visual	MA categorias	170	23 (14%)
Memória	AVLT 30	176	19 (11%)
	AVLT imediato	176	39 (22%)
	AVLT rec	176	56 (32%)
Memória de trabalho e atenção	MD	172	11 (6%)
	TC	173	15 (9%)
Linguagem	RF	167	39 (23%)

No quadro 16 estão descritas as frequências de doentes com declínio cognitivo, de acordo com o nº de medidas da bateria NP com declínio. O declínio cognitivo moderado (ou seja, $\geq 25\%$ das medidas NP com declínio cognitivo) foi encontrado em 47 doentes, correspondendo a uma frequência de 27% no grupo de doentes.

Quadro 16 - Número e percentagem de doentes com declínio cognitivo em medidas NP

Declínio cognitivo	Doentes N (%)	
Nenhum teste NP com declínio	32	(18%)
1 teste NP com declínio	39	(22%)
2 testes NP com declínio	61	(35%)
3 ou mais testes NP com declínio	44	(25%)
25 % ou mais de testes NP realizados com declínio (declínio cognitivo moderado)	47	(27%)

Objetivo 2 - Investigar quais as variáveis preditivas de declínio cognitivo.

Para explorar a relação entre o declínio cognitivo e as características genéticas, demográficas e clínicas foram feitas análises de regressão logística (conforme descrito nos procedimentos, secção análise estatística). Os resultados das análises de regressão logística simples e múltipla encontram-se nos quadros 17 a 22, tendo sido apenas assinaladas as variáveis que obtiveram resultados estatisticamente significativos ($p < 0,05$).

Análise de regressão logística simples

a) Características genéticas

Não foi encontrada qualquer associação entre a presença dos alelos *HLA-DRB1*15:01* e alelo *ApoE ε4* e a existência de declínio no *9HPT* e de declínio cognitivo nas diferentes medidas NP ou de declínio cognitivo moderado ($p > 0,05$);

b) Características demográficas

Encontrou-se uma associação significativa entre sexo masculino e maior declínio cognitivo na medida de linguagem (RF) (quadro 21). Considerou-se, assim, relevante explorar o efeito do sexo nos *RCI* dos controlos nesta medida NP através do teste de *Mann-Whitney*. Não foi encontrada uma diferença significativa entre o *RCI* dos controlos do sexo feminino e do sexo masculino ($p=0,378$).

Verificou-se que a idade mais avançada está associada a maior declínio numa medida de memória (*AVLT* 30) e a uma maior frequência de declínio cognitivo moderado (quadros 20 e 22). Os doentes com escolaridade mais elevada têm menor risco de declínio em medidas de funções executivas (*WCST* categorias e *WCST* erros), de memória (*AVLT* rec) e de linguagem (RF) e a maior risco de declínio cognitivo moderado (quadro 19 a 22). Foram encontradas ainda tendências para associações significativas ($p > 0,05$ a $p < 0,1$) entre o sexo e o declínio no teste de destreza manual (*9HPT*); entre a idade e o declínio na medida de *AVLT* rec; e entre a escolaridade e o declínio nas medidas de velocidade psicomotora e exploração visual (MA tempo e MA corretas). Conforme descrito anteriormente, não foram encontrados efeitos significativos da idade ou da escolaridade (variável dicotomizada) nos *RCI* dos controlos no *9HPT* e nas diferentes medidas NP ($p > 0,1$)

c) Características clínicas

Verificou-se que a disfunção cognitiva moderada inicial é preditiva de declínio nas medidas velocidade psicomotora e exploração visual (MA tempo e MA corretas), de uma medida de funções executivas (*WCST* erros) e de medidas de memória (*AVLT* imediato e *AVLT* rec) e de declínio cognitivo moderado (quadros 18, 19, 20 e 22). O *EDSS* inicial associa-se a maior declínio no teste de destreza manual (*9HPT*) (quadro 17). O *MSSS* inicial está estatisticamente associado a maior declínio no teste de destreza manual (*9HPT*), numa medida de funções executivas (*WCST* categorias) e declínio cognitivo moderado (quadro 17, 19 e 22). Uma duração mais longa da doença está associada a declínio significativo no teste de destreza manual (*9HPT*) (quadro 17). O curso EM-SP está associado a maior declínio no teste de destreza manual (*9HPT*) e numa medida de atenção e memória de trabalho (MD) (quadro 17 e 21), enquanto que o curso EM-PP associa-se a maior declínio apenas no teste de destreza manual (*9HPT*) (quadro 17). Foram encontradas ainda tendências para associações significativas ($p > 0,05$ a $p < 0,1$) entre *EDSS* e declínio em medidas de memória (*AVLT* rec) e linguagem (RF); entre a

duração da doença e o declínio numa medida de memória (*AVLT* 30); e entre a idade de início da doença mais avançada e maior declínio numa medida de funções executivas (*WCST* categorias).

A idade de início da doença, o intervalo de tempo entre 1º e 2º surto e o número de surtos nos primeiros dois anos não se apresentaram estatisticamente associados ao declínio significativo no *9HPT*, ao declínio cognitivo nas medidas NP ou ao declínio cognitivo moderado ($p > 0,05$). Nenhuma das variáveis demográficas e clínicas analisadas se mostraram preditivas de declínio cognitivo nas medidas FVL e TC ($p > 0,05$).

Análise de regressão logística múltipla

Na regressão logística múltipla, usando apenas as variáveis significativas e ao ajustar para as restantes variáveis de cada um dos modelos, mantiveram-se como variáveis preditivas de declínio entre a avaliação inicial e a avaliação final (quadros 17 a 22): a idade (com o declínio cognitivo moderado), o sexo masculino (com o declínio na medida de linguagem - RF), a escolaridade (com o declínio em medidas de memória e de linguagem - *AVLT* rec e RF), a disfunção cognitiva moderada inicial (com o declínio em medidas de velocidade psicomotora, exploração visual e funções executivas - MA tempo, MA corretas e *WCST* erros - e com o declínio cognitivo moderado), o *MSSS* inicial (com o declínio numa medida de funções executivas - *WCST* categorias) e o curso progressivo seja EM-SP ou EM-PP (com o declínio no teste de destreza manual - *9HPT*).

Objetivo 3 – Explorar os parâmetros da relação entre incapacidade/gravidade neurológica e declínio cognitivo, em particular a influência da duração da doença.

Apesar da análise logística simples ter documentado que o *MSSS* é preditivo de declínio cognitivo moderado nos três anos seguintes, a relação entre incapacidade/gravidade neurológica e declínio cognitivo parece ser menos clara do que a encontrada entre incapacidade neurológica e disfunção cognitiva no estudo 2. Dada a variabilidade da EM é importante esclarecer os parâmetros que podem influenciar esta relação.

Será que a duração da doença influencia a relação entre incapacidade/gravidade neurológica e declínio cognitivo em doentes com curso EM-RR? Para responder a esta questão, a relação entre incapacidade/gravidade neurológica e declínio cognitivo

moderado foi explorada em três subgrupos com duração de doença diferentes (aquando da avaliação inicial < seis anos de duração, n=53; entre seis e dez anos de duração, n=42 e > dez anos de duração, n=42). Esta análise adicional revelou que o *EDSS* é preditivo de declínio cognitivo moderado apenas em doentes com duração de doença entre seis e dez anos (OR=1,936; IC95%=1,134-3,305; $p=0,015$). Nos outros subgrupos de duração de doença, o *EDSS* não é preditivo de declínio cognitivo moderado (doentes com < seis anos de duração: $p=0,469$; doentes >dez anos de duração: $p=0,915$). O *MSSS* é preditivo de declínio cognitivo moderado em doentes com duração entre 6 e 10 anos (OR=1,627; IC95%=1,115-2,374; $p=0,012$). Nos outros subgrupos, o *MSSS* não é preditivo de declínio cognitivo moderado (doentes com < seis anos de duração: $p=0,688$; doentes com >dez anos de duração: $p=0,470$).

Nos doentes com duração de doença entre seis e dez anos, um valor de *EDSS* ≥ 3 na avaliação inicial tem uma sensibilidade de 77,8% e uma especificidade de 66,7% na identificação de declínio cognitivo moderado na avaliação final (figura 2 e quadro 23). O valor preditivo positivo do *EDSS* ≥ 3 nesta duração de doença é de 39%, enquanto o valor preditivo negativo do *EDSS* <3 nesta duração de doença é de 92%.

Nos doentes com duração de doença entre seis e dez anos, um valor de *MSSS* $\geq 5,33$ na avaliação inicial tem uma sensibilidade de 77,8% e uma especificidade de 81,8% na identificação de declínio cognitivo moderado na avaliação final (figura 3 e quadro 24). O valor preditivo positivo do *MSSS* $\geq 5,33$ nesta duração de doença é de 53,8%, enquanto o valor preditivo negativo do *MSSS* $<5,33$ nesta duração de doença é de 93,1%.

Quadro 17 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de declínio significativo numa medida de destreza manual

	Regressão Logística Simples	Regressão Logística Múltipla	
		Modelo1	Modelo 2
9HPT	<p><i>EDSS</i> (OR=1,524; IC95%=1,226-1,895; $p<0,001$)</p> <p><i>MSSS</i> (OR=1,264; IC95%=1,080-1,479; $p=0,003$)</p> <p>Curso: SP (OR=8,681; IC95%=3,108-24,247; $p<0,001$) PP (OR=5,682; IC95%=1,785-18,083; $p=0,03$)</p> <p>Duração (OR=1,053; IC95%=1,007-1,101; $p=0,025$)</p>	<p>Curso: SP (OR ajustado=8,681; IC95%=3,108-24,247; $p<0,001$) PP (OR ajustado=5,682; IC95%=1,785-18,083; $p=0,003$)</p>	<p>Curso: SP (OR ajustado=8,681; IC95%=3,108-24,247; $p<0,001$) PP (OR ajustado=5,682; IC95%=1,785-18,083; $p=0,003$)</p>

Modelo 1: duração da doença, *EDSS* na avaliação inicial, curso; **Modelo 2:** curso inicial, *MSSS* na avaliação

Método de seleção de variáveis: Forward stepwise

Quadro 18 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de declínio cognitivo em medidas de velocidade psicomotora e exploração visual

	Regressão Logística Simples
MA tempo	Disfunção cognitiva moderada inicial (OR=2,866; IC95%=1,303-6,304; $p=0,009$)
MA correctas	Disfunção cognitiva moderada inicial (OR=2,657; IC95%= 1,069-6,608; $p=0,035$)

Quadro 19 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de declínio cognitivo em medidas de funções executivas

	Regressão Logística Simples	Regressão Logística Múltipla
WCST categorias	Escolaridade: OR=0,424; IC95%=0,190-0,942; $p=0,035$ MSSS (OR=1,181; IC95%=1,023-1,364; $p=0,023$)	MSSS: OR ajustado=1,181; IC95%=1,023-1,364; $p=0,023$)
WCST erros	Escolaridade (OR=0,329; IC95%=0,138-0,785; $p=0,012$) Disfunção cognitiva moderada inicial (OR=5,870; IC95%=2,454-14,041; $p < 0,001$)	Disfunção cognitiva moderada inicial (OR ajustado=5,870; IC95%=2,454-14,041; $p < 0,001$)
FVL	NS	-

Modelo de regressão para o WCST categorias: escolaridade e MSSS

Modelo de regressão para o WCST erros: escolaridade e disfunção cognitiva moderada inicial

Método de seleção de variáveis: *Forward stepwise*

Quadro 20 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de declínio cognitivo em medidas de memória

	Regressão Logística Simples	Regressão Logística Múltipla
AVLT 30	Idade (OR=1,064; IC95%=1,013-1,117; $p=0,014$)	-
AVLT imediato	Disfunção cognitiva moderada inicial (OR=2,756; IC95%=1,3-5,842; $p=0,008$)	-
AVLT rec	Disfunção cognitiva moderada inicial (OR=2,459; IC95%=1,228-4,922; $p=0,011$) Escolaridade (OR=0,458; IC95%=0,219-0,8; $p=0,008$)	Escolaridade (OR ajustado=0,458; IC95%=0,219-0,8; $p=0,008$)

Modelo de regressão para o AVLT rec: disfunção cognitiva moderada inicial, escolaridade

Método de seleção de variáveis: *Forward stepwise*

Quadro 21 - Análise de Regressão logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de declínio cognitivo em medidas atenção, memória de trabalho e linguagem

	Regressão Logística Simples	Regressão Logística Múltipla
TC	NS	-
MD	Curso: SP: OR=5,020; IC95%=1,285-19,608; $p=0,020$	-
RF	Sexo (Masculino, OR=3,183; IC95%=1,520-6,667; $p=0,002$) Escolaridade (OR=0,431; IC95%=0,208-0,896; $p=0,024$)	Sexo (Masculino, OR ajustado=3,276; IC95%=1,540-6,971; $p=0,002$) Escolaridade (OR ajustado=0,415; IC95%=0,195-0,885; $p=0,023$)

NS: Não foram encontrados resultados significativos.

Modelo de regressão para a RF: sexo, escolaridade

Método de seleção de variáveis: *Forward stepwise*

Quadro 22 - Análise de Regressão Logística: variáveis demográficas e clínicas preditivas de declínio cognitivo moderado

	Regressão Logística Simples	Regressão Logística Múltipla
Declínio cognitivo moderado	<p>Idade (OR=1,037; IC95%=1,002-1,073; $p=0,038$)</p> <p>Escolaridade (OR=0,429; IC95%=0,217-0,849; $p=0,015$)</p> <p>MSSS inicial (OR=1,136; IC95%= 1,005-1,284; $p=0,042$)</p> <p>Disfunção cognitiva moderada inicial (OR=3,661; IC95%=1,781-7,523; $p < 0,001$)</p>	<p>Idade (OR ajustado=1,041; IC95%=1,004-1,079; $p=0,029$)</p> <p>Disfunção cognitiva moderada inicial (OR ajustado=3,851; IC95%=1,843-8,046; $p < 0,001$)</p>

Modelo de regressão: idade, escolaridade, MSSS inicial, disfunção cognitiva moderada inicial

Método de seleção de variáveis: *Forward stepwise*

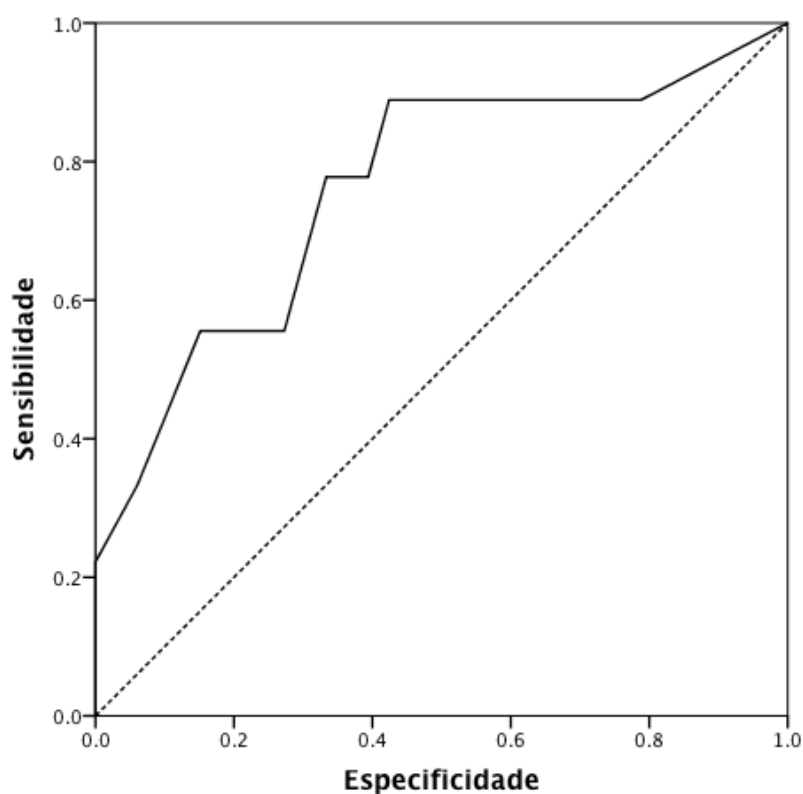


Figura 2 - Capacidade do *EDSS* inicial discriminar os doentes com e sem declínio cognitivo moderado na avaliação final, em doentes com duração de doença entre seis e dez anos aquando da avaliação inicial (área da curva de ROC=0,761)

Quadro 23 - Capacidade do *EDSS* inicial discriminar os doentes com e sem declínio cognitivo moderado na avaliação final, em doentes com duração de doença entre seis e dez anos aquando da avaliação inicial

<i>EDSS</i>	Sensibilidade	Especificidade
2	88,9	57,6
2,5	77,8	60,6
3	77,8	66,7
3.5	55,6	72,7
4	55,6	84,8

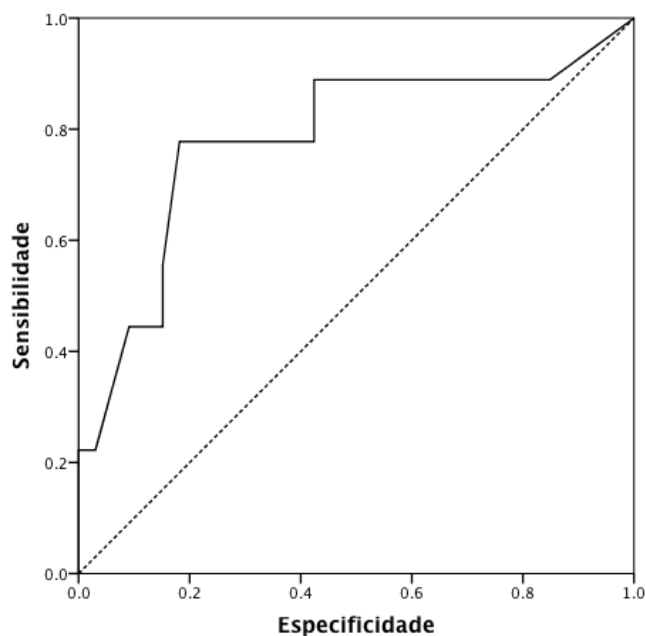


Figura 3 - Capacidade do *MSSS* inicial discriminar os doentes com e sem declínio cognitivo moderado na avaliação final, em doentes com duração de doença entre seis e dez anos aquando da avaliação inicial (área da curva de ROC= 0,783)

Quadro 24 - Capacidade do *MSSS* inicial discriminar os doentes com e sem declínio cognitivo moderado na avaliação final, em doentes com duração de doença entre seis e dez anos aquando da avaliação inicial.

MSSS	Sensibilidade	Especificidade
2,63	88,9	57,6
3,015	77,8	57,6
3,275	77,8	60,6
3,495	77,8	63,6
3,855	77,8	66,7
4,36	77,8	69,7
4,74	77,8	75,8
5,105	77,8	78,8
5,33	77,8	81,8
5,51	55,6	84,8

Discussão

A maioria dos estudos longitudinais reportados na literatura^{174; 177; 178; 184; 193; 212; 344; 414} analisaram o funcionamento cognitivo em doentes com EM através das diferenças de desempenho entre grupos de doentes (por exemplo: grupo com deterioração cognitiva vs sem deterioração cognitiva), sendo escassos os estudos que estudaram a variação individual ao longo do tempo^{410; 498}. As comparações entre grupos são úteis para estudar variações relativamente uniformes, no entanto, à semelhança do que ocorre para outros défices neurológicos, também aqui há heterogeneidade do atingimento cognitivo na doença. No grupo estudado foram exploradas as mudanças cognitivas ao longo do tempo e verificou-se que a frequência de declínio moderado após três anos de doença foi de 27% (47 doentes). Esta frequência é semelhante à descrita em outras populações de doentes com tempo de seguimento semelhante^{83; 193; 212; 344}.

A escolha do *RCI* como método para analisar a variação no funcionamento cognitivo permitiu fazer uma medição individual da alteração em função do tempo, controlando para o erro de medição e para o “efeito da prática”. A utilização desta metodologia foi possível porque um grupo de controlos saudáveis realizaram a mesma bateria NP em dois momentos, com intervalo de tempo semelhante ao do grupo de doentes. O *RCI* é considerado uma das metodologias mais adequadas para o estudo da evolução do funcionamento cognitivo nestes doentes^{410; 498}, pois permite detetar variabilidade individual na evolução do funcionamento cognitivo ao longo do tempo. Uma outra vantagem do *RCI* é a possibilidade de controlar para o efeito resultante da repetição de testes - “efeito da prática”. Este é um efeito comum em avaliações NP repetidas, sendo particularmente relevante em indivíduos jovens e com maior escolaridade, características frequentes nestes doentes. O “efeito da prática” é descrito como um dos possíveis motivos para a aparente estabilização ou até mesmo melhoria do desempenho cognitivo em provas neuropsicológicas repetidas, encontrada em algumas populações de doentes^{184; 193; 498}. O “efeito da prática” deve ser sempre tido em conta no estudo longitudinal da cognição, pois este efeito pode esconder declínios cognitivos reais.

Neste estudo, considerou-se que o percentil 16 no *RCI* como ponto de corte de declínio cognitivo era clinicamente mais adequado do que o tradicional percentil 5 (intervalo de confiança de 95%) na deteção de declínio⁴⁹⁸. Esta escolha é mais sensível a declínios ligeiros, que poderão ser clinicamente relevantes. Sabe-se que alterações subtis no funcionamento cognitivo podem ter impacto significativo na qualidade de vida ou na atividade profissional dos doentes^{270; 498}. No entanto, reconhece-se que esta opção

pode aumentar o risco de ocorrência de falsos positivos na deteção de declínio significativo.

Neste estudo, a memória (*AVLT* rec - 32% e *AVLT* imediato - 22%) foi a área cognitiva mais susceptível a declínio. Este resultado é concordante com o encontrado em outros estudos ^{178; 182; 188; 345; 414}. Por outro lado, verificou-se que o desempenho em testes de atenção e memória de trabalho (*MD* - 6% e *TC* - 9%) declina menos, o que é concordante com outros estudos ^{174; 196; 345}, ainda que exista pelo menos um estudo com resultados que apontam noutro sentido ¹⁷⁸.

A disfunção cognitiva moderada inicial, a idade mais avançada à data da avaliação inicial e a escolaridade mais baixa, mesmo quando controladas para outras variáveis, foram preditivas de declínio no maior número de medidas NP. No presente estudo, a disfunção cognitiva moderada inicial revelou-se como o fator preditivo de declínio cognitivo mais importante, seja em medidas de velocidade psicomotora (*MA* tempo), de exploração visual (*MA* corretas), de funções executivas (*WCST* erros), de memória (*AVLT* imediato) ou de declínio cognitivo moderado, suportando conclusões já conhecidas ^{174; 182; 190}. A disfunção cognitiva inicial tem sido o fator clínico preditivo de declínio mais consistentemente encontrado na literatura ^{178; 212; 344; 345}, o que sugere que a disfunção cognitiva na EM tem uma evolução progressiva. A idade mais avançada foi também preditiva de declínio de memória (*AVLT* 30) e de declínio cognitivo moderado, estando estes resultados de acordo com o documentado na literatura ^{174; 410; 414; 416}.

A baixa escolaridade está associada a declínio cognitivo significativo em medidas de funções executivas (*WCST* categorias e *WCST* erros), de memória (*AVLT* rec), de linguagem (*RF*) e de declínio cognitivo moderado. Esta associação mantém-se significativa mesmo ajustando para outras covariáveis em medidas de funções executivas (*WCST* erros) e de linguagem (*RF*). Estes resultados apontam para o potencial papel “protetor” da escolaridade no declínio cognitivo. O papel da escolaridade no declínio cognitivo em doentes com EM tem sido pouco explorado. Há um estudo longitudinal que encontrou resultados que suportam a perspetiva da escolaridade como variável moduladora do declínio cognitivo, nomeadamente em medidas de velocidade psicomotora ⁴⁰⁸. No entanto, outro estudo não confirmou este efeito positivo da escolaridade no declínio cognitivo de doentes com EM ⁴¹⁰. Algumas das explicações para as diferenças de resultados entre o nosso estudo e o estudo reportado por Amato são as características da amostra, nomeadamente o nº de doentes estudados (respectivamente n=176 e n=35) e o tempo de seguimento (respectivamente 3,04 anos e 1,6 anos).

A ausência de dados imagiológicos que permitam relacionar o funcionamento cognitivo com marcadores imagiológicos de patologia é uma das limitações do nosso estudo. O efeito modulador positivo da escolaridade no declínio cognitivo, encontrado nos nossos doentes, é discrepante com o encontrado nalgumas populações saudáveis, nas quais não foi encontrado qualquer efeito ⁴⁹⁹ ou em patologias neurológicas, tais como a DA. Na DA, o efeito da escolaridade no declínio cognitivo é oposto, isto é, ainda que a elevada escolaridade esteja associada a diminuição do risco de desenvolver défice cognitivo em fases iniciais ou pré-clínicas de demência, após o diagnóstico de demência o declínio cognitivo é maior nos doentes com elevada escolaridade ⁵⁰⁰. As diferenças de idade e a natureza e tipo de patologia podem explicar, em parte, as diferenças de efeito de indicadores de reserva (por exemplo: a escolaridade) no declínio cognitivo. A EM inclui não apenas processos de desmielinização e perda axonal, mas também mecanismos de regeneração, enquanto que doenças progressivas como a DA se caracterizam essencialmente pela perda neuronal e axonal.

Ainda que seja amplamente reconhecido que o nível de escolaridade não corresponde apenas ao nível de “estimulação intelectual” e que pode estar relacionado com outros fatores externos ao próprio sujeito (por exemplo: nível socioeconómico e grau de escolaridade dos pais), os nossos resultados, à semelhança do descrito por Booth *et al* ⁵⁰¹ suportam que a estimulação cerebral ao longo da vida poderá modificar o declínio cognitivo em doentes com EM. ³⁹¹.

O sexo masculino está associado a maior declínio cognitivo num teste que mede linguagem (teste de RF). Este efeito do sexo não pode ser explicado por diferenças normais entre sexos no teste-reteste da RF, pois o RCI dos controlos do sexo feminino não é diferente dos controlos do sexo masculino. Apesar da associação entre sexo masculino e maior declínio cognitivo ter sido apenas observada numa medida cognitiva, o conhecimento atual sugere que o sexo masculino está associado a pior prognóstico, seja para medidas de incapacidade neurológica, nomeadamente tempo para atingir determinado *EDSS* ^{56; 311; 502}, seja para medidas de desempenho cognitivo ^{311; 419}. Ainda se desconhece a razão pela qual o sexo masculino aparece associado a um pior prognóstico cognitivo. Estudos que documentam diferenças de conectividade funcional e de eficiência das redes neuronais entre doentes dos dois sexos e que apontam para a desvantagem dos doentes do sexo masculino ³²¹ talvez possam fornecer pistas para uma possível explicação.

A relação entre *EDSS* inicial e declínio na destreza manual (*9HPT*) (no global da amostra do estudo longitudinal) aparenta ser modesta (associação significativa apenas

na regressão logística simples). Não foram encontradas associações significativas entre *EDSS* inicial e declínio cognitivo. Nalguns estudos longitudinais, a incapacidade neurológica, foi identificada como preditiva de declínio cognitivo^{61; 174; 421}, embora noutros estudos tal associação não se confirmasse^{83; 177; 346}. À semelhança do *EDSS* inicial, a relação entre o *MSSS* inicial e o declínio na destreza manual (*9HPT*) é relativamente modesta. Foram encontradas associações estatísticas entre *MSSS* inicial e declínio cognitivo (*WCST* categorias e de declínio cognitivo moderado). A relação com a medida de funções executivas - *WCST* categorias – manteve-se estatisticamente significativa mesmo quando controlado para outras covariáveis. O estudo do *MSSS* como fator preditivo de declínio cognitivo não foi ainda relatado na literatura, talvez porque o *MSSS* seja uma medida clínica introduzida recentemente e portanto de utilização menos generalizada do que o *EDSS*. Uma das possíveis explicações para a discrepância de resultados no que respeita à relação entre *EDSS* inicial e declínio cognitivo nos vários estudos poderá estar nas diferenças clínicas das populações alvo, nomeadamente quanto à duração da doença^{190; 348}. Um estudo longitudinal em doentes com diagnóstico recente e com reavaliação aos quatro anos e aos dez anos^{174; 177}, revelou que o *EDSS* é preditivo do funcionamento cognitivo aos dez anos de seguimento, mas não aos quatro anos de seguimento. Estes resultados sugerem que a relação entre a incapacidade neurológica e o funcionamento cognitivo pode variar ao longo do tempo¹⁹⁰, apesar de não se encontrar uma relação significativa entre declínio cognitivo e duração de doença^{178; 348}.

A EM é uma doença crónica com grande variabilidade na sua expressão clínica e modo de evolução. Os estudos de história natural da EM suportam o conceito da existência de dois estadios principais: uma fase inicial de surtos/predomínio da inflamação, de duração variável e em que é possível identificar fatores precoces de prognóstico (por exemplo: idade de início da doença); e uma segunda fase (progressiva/neurodegenerativa) com progressão independente do curso inicial ou das características clínicas ou demográficas iniciais^{10; 43; 58}. De acordo com esta abordagem, os fatores preditivos podem ser úteis e válidos em determinados períodos de evolução da doença podendo esta informação ser fundamental para adequar a intervenção terapêutica no sentido do maior benefício (“janela” de oportunidade terapêutica)^{503; 504}.

Por fim, foi explorada a relação entre o *EDSS* e o declínio cognitivo moderado na EM-RR em doentes com durações de doença específicas. Verificou-se que o *EDSS* apenas tem elevado valor preditivo de declínio cognitivo moderado em doentes com seis a dez anos de doença. Neste grupo específico de doentes, o valor 3 no *EDSS* apresentou boa capacidade discriminativa para declínio cognitivo moderado. Estes resultados

reforçam a relevância da pontuação 3 no *EDSS* como um marco clínico importante para o prognóstico da EM.

Apesar da metodologia que utilizamos diminuir alguns dos problemas identificados em outros estudos longitudinais conhecidos, existem algumas limitações que devem ser citadas. As amostras de doentes e de controlos são relativamente pequenas comparativamente às do estudo transversal, ainda que equiparáveis nos dois grupos (participaram no estudo longitudinal 39% dos doentes e 35% dos saudáveis controlos saudáveis do estudo transversal). Os doentes e os controlos do estudo longitudinal são semelhantes quanto ao sexo, mas têm algumas diferenças em termos de idade e de número de anos de escolaridade. No entanto, os intervalos de idade e de escolaridade são semelhantes entre grupos. Adicionalmente, foram explorados os efeitos da idade e da escolaridade na evolução do funcionamento cognitivo dos controlos ao longo de três anos e não foram encontrados efeitos significativos. Assim, consideramos os RCI dos controlos que serviram de referência para a classificação individual de declínio significativo, são válidos para o grupo de doentes estudados.

Atualmente pensa-se que a TMD pode influenciar positivamente o prognóstico cognitivo^{184; 193; 211}. Há evidência de que a TMD reduz a acumulação do dano neurológico irreversível, traduzido pelo efeito na carga lesional em T1 e T2 e na atrofia cerebral⁷⁶, parâmetros que sabemos relacionados com o desempenho e o declínio cognitivo^{76; 83}. No presente estudo, não foi possível explorar o papel da TMD no declínio cognitivo dada a variabilidade das medicações utilizadas e a duração dos tratamentos. O papel da TMD na progressão da incapacidade neurológica tem sido difícil de demonstrar nos ensaios clínicos, no entanto publicações de coortes de doentes tratados com TMD por um longo período de tempo^{53; 55} sugerem que esta aumenta o tempo para entrar em fase secundariamente progressiva, afetando assim a progressão do declínio neurológico reflectida no *EDSS*. A intervenção precoce com objetivo de diminuir a progressão no *EDSS* poderá diminuir o risco de declínio cognitivo em doentes com EM-RR⁵⁰⁵.

Em resumo, as principais conclusões deste estudo longitudinal são:

- 1) Em termos de desempenho individual, 27% do total de doentes estudados teve declínio cognitivo moderado num período de três anos de doença;
- 2) A existência de disfunção cognitiva inicial é preditiva de declínio cognitivo moderado subsequente o que apoia a noção de que a disfunção cognitiva na EM é progressiva;
- 3) A escolaridade tem um efeito modulador do funcionamento cognitivo ao longo do tempo na EM;
- 4) A relação entre incapacidade neurológica e declínio cognitivo na EM-RR depende da duração da doença.

CAPÍTULO 3 – DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

Os trabalhos apresentados no âmbito desta tese resultam do estudo do funcionamento cognitivo e comportamental de doentes com EM seguidos numa consulta de Neuroimunologia de um hospital Universitário terciário, englobando doentes com diferentes durações e cursos de doença. Foram incluídos 419 doentes de forma consecutiva nos estudos 1 e 2 tendo sido feita a caracterização do funcionamento cognitivo e comportamental através da aplicação de uma bateria de testes NP. Os resultados de cada doente foram ajustados para o sexo, idade e escolaridade, com base nos coeficientes de regressão de um grupo de sujeitos saudáveis da comunidade (grupo de controlo n=159) testados com mesma bateria de testes NP. Foram identificadas as funções cognitivas mais susceptíveis à disfunção e foram exploradas as associações dos défices cognitivos e comportamentais encontrados com características genéticas, demográficas e clínicas (Capítulo 2, primeira parte). Num subgrupo de 176 doentes e 55 sujeitos saudáveis foi explorada a evolução do funcionamento cognitivo ao longo de três anos e foram testadas as capacidades preditivas de declínio cognitivo de variáveis genéticas, demográficas e clínicas (Capítulo 2, segunda parte). Finalmente, foram explorados os parâmetros da relação entre incapacidade/gravidade neurológica e declínio cognitivo, em particular o efeito da duração da doença.

Na sequência da investigação efetuada foi possível enunciar um conjunto de questões para quais temos algumas respostas. Em seguida enunciamos essas questões e discutimos as respostas encontradas.

Questão: Estarão as funções cognitivas alteradas nesta população de doentes (n=419)? Se sim, quais as áreas cognitivas mais susceptíveis à disfunção? (Estudos 1 e 2)

A deterioração cognitiva global é relativamente pouco frequente na EM, tendo sido encontradas alterações no *MMSE* no espectro da demência em 11% dos doentes. Défices cognitivos compatíveis com disfunção cognitiva moderada (desempenho deficitário em pelo menos 25% das medidas NP) em 19%. As áreas cognitivas mais afetadas são: velocidade psicomotora, memória, funções executivas e exploração visuo-espacial. Estes resultados estão globalmente de acordo com o descrito na literatura^{187; 190} ainda que existam estudos que documentam frequências de défice cognitivo que atingem 65%¹⁹³. A opção por uma abordagem conservadora (na identificação de défice cognitivo) pode ter resultado na subestimação da prevalência de défices cognitivos na população

estudada. No entanto, este trabalho não pretendeu ser um estudo de prevalência ou incidência mas sim um estudo observacional do tipo caso-controlo.

Questão: Há fatores genéticos, demográficos e clínicos associados a essa disfunção cognitiva? (Estudos 1 e 2)

Foi explorada a influência de dois alelos (alelo *HLA-DRB1*15:01* e alelo *ApoE ε4*) no funcionamento cognitivo não se tendo encontrado associações significativas com a deterioração cognitiva. Apesar de existirem alguns estudos que rejeitaram a hipótese nula^{134; 309-311; 315}, os estudos metodologicamente mais robustos também não encontraram associações significativas^{148; 155; 312}. Destes resultados pode concluir-se que o papel destes biomarcadores genéticos no funcionamento cognitivo de doentes com EM é nulo ou reduzido.

A idade (mais avançada) e a escolaridade (baixa escolaridade) foram encontradas como preditivas de disfunção cognitiva nos doentes estudados no estudo 2. Os efeitos da idade não estão esclarecidos, mas podem estar relacionados com uma menor capacidade de recrutamento ou plasticidade cerebral nos doentes mais velhos, mecanismo conhecido como relevante para manter e otimizar o desempenho cognitivo à medida que a idade avança^{485; 486}. Em relação à escolaridade, a diversidade dos níveis de escolaridade nos doentes e a universalidade do acesso à saúde (diagnóstico e tratamento dos doentes com EM pelo Sistema Nacional de Saúde) encontrada na população estudada (não verificada na maioria dos países da Europa e da América do Norte), permitiu explorar e confirmar o papel da escolaridade como indicador de reserva cognitiva na EM. Ainda que não tenha sido possível estudar os marcadores imagiológicos de doença nos nossos doentes, existem dados da literatura indicam que a elevada escolaridade atenua os efeitos negativos da patologia (medida por marcadores imagiológicos) no funcionamento cognitivo³²³. Os resultados encontrados reforçam a importância desta variável demográfica e contribuem para melhorar o conhecimento sobre a relação entre escolaridade e manifestações clínicas da doença.

À semelhança do descrito noutros estudos, o funcionamento cognitivo deficitário associa-se a maior incapacidade neurológica (medida pela *EDSS*)^{174; 180; 246; 266; 345; 348; 349}, a maior gravidade neurológica (medida pelo *MSSS*) e a curso progressivo de doença (EM-SP e EM-PP)^{180; 329-333; 506}.

Questão: Existe distúrbio olfativo na EM? Se existe, está associado a medidas de incapacidade neurológica e ao curso da doença? (Estudo 3)

O distúrbio olfativo ($B-SIT \leq 8$) é mais frequente nos doentes estudados ($n=153$) do que nos sujeitos saudáveis com características demográficas semelhantes ($n=165$) (11,1% vs 3%, $p=0,007$). Verificou-se a existência de uma forte associação entre perda olfativa e curso secundário progressivo (68,8%). Esta associação sugere que na EM o distúrbio olfativo poderá ser reflexo da componente neurodegenerativa da doença, à semelhança do que ocorre noutras doenças (por exemplo: doença de Parkinson e DA)^{251; 252; 254}. Futuros estudos longitudinais poderão esclarecer o potencial preditivo da disfunção olfativa precoce na EM.

Questão: A sintomatologia psicopatológica na EM está associada a variáveis demográficas e a medidas de incapacidade neurológica? (Estudo 4)

Sabe-se que índices psicopatológicos (depressão e ansiedade) elevados são mais frequentes em doentes com EM do que na população geral^{164; 319; 493}, o que foi confirmado no estudo 4 que englobou 312 doentes e 183 sujeitos saudáveis da comunidade. Foram também encontradas associações positivas entre sintomas de depressão e as variáveis idade, duração da doença, idade de início e índices de incapacidade neurológica (*EDSS*) e gravidade neurológica (*MSSS*). Estes resultados favorecem a hipótese que uma grande parte das alterações do humor nestes doentes poderão ser manifestações clínicas da doença^{164; 362}, isto sem excluir a possibilidade da coexistência de co-morbilidades psicológicas reativas a uma doença crónica e pouco previsível como é a EM.

Questão: Será que existe, nestes doentes, declínio cognitivo significativo num período de três anos? (Estudo 5)

A evolução do funcionamento cognitivo num período de três anos foi estudada em 176 doentes e em 55 sujeitos saudáveis da comunidade. Tendo como referência o padrão de evolução do grupo de sujeitos saudáveis, foi registado declínio cognitivo moderado em 27% dos doentes, tendo sido a memória o domínio mais suscetível ao declínio, à semelhança do reportado noutros estudos^{178; 188; 344}. O declínio mais frequente verificou-se na medida de reconhecimento diferido do *AVLT* (32%), o que traduz uma maior perda ao nível da retenção de nova informação verbal.

Questão: Será que existem características preditivas de declínio cognitivo na EM? O que se pode concluir numa análise longitudinal num período de três anos? (Estudo 5)

Foram estudados potenciais marcadores (genéticos, demográficos e clínicos) de prognóstico de declínio cognitivo. O conhecimento desses marcadores é essencial para que no futuro se desenvolva uma intervenção terapêutica dirigida mais precoce, diminuindo ou prevenindo as consequências devastadoras relacionadas com a disfunção cognitiva.

A disfunção cognitiva inicial foi o fator preditivo mais importante para declínio cognitivo nos doentes com EM e tem sido o mais reportado em estudos longitudinais^{178; 212; 419}. Foram também encontrados efeitos significativos do sexo (masculino), da idade (mais avançada) e da escolaridade (baixa escolaridade) como fatores demográficos moduladores do declínio em múltiplos domínios cognitivos. A associação com a idade e o sexo é consistente com outros estudos^{174; 410; 414; 419}.

Os resultados da escolaridade apontam para um efeito protetor desta variável demográfica não apenas para a disfunção cognitiva (amplamente reconhecido na EM e noutras patologias neurológicas) como também para o declínio cognitivo, encontrado em doentes com EM apenas neste estudo e num outro anteriormente⁴⁰⁸. Estes achados levantam duas questões: Será que intervenção no sentido do enriquecimento intelectual pode evitar, atrasar ou atenuar o défice cognitivo? Será que os doentes com EM conseguem preservar ou manter a sua reserva cerebral e cognitiva se adotarem um estilo de vida saudável, que inclua a atividade intelectual, social e física, dieta saudável, higiene do sono e maior adesão a TMD? Futuros estudos longitudinais deverão avaliar a eficácia de intervenções desenhadas para desenvolver reserva ativa na EM.

Questão: Será que nos doentes com EM-RR, a relação entre incapacidade/gravidade neurológica e declínio cognitivo está dependente da duração da doença? (Estudo 5)

Os resultados encontrados apontam para a influência da duração da doença na relação entre declínio cognitivo e incapacidade/gravidade neurológica. O *EDSS* e o *MSSS* apenas têm elevado valor preditivo de declínio cognitivo moderado num período de três anos em doentes EM-RR com seis a dez anos de doença. Neste subgrupo de doentes o valor de 3 no *EDSS* apresentou boa capacidade discriminativa entre doentes com e sem declínio cognitivo moderado. Estes resultados reforçam a relevância da pontuação 3 no *EDSS* como um marco clínico importante para o prognóstico da EM.

CONCLUSÕES

Os resultados destes trabalhos de investigação puseram em evidência que:

1. As manifestações cognitivas e comportamentais na EM são frequentes havendo contudo uma importante heterogeneidade clínica na gravidade da disfunção cognitiva e nos domínios afetados;
2. De entre as variáveis demográficas, a idade e a escolaridade têm efeitos determinantes nas manifestações cognitivas e comportamentais dos doentes com EM;
3. O distúrbio olfativo tem uma forte associação com o curso secundário progressivo da doença;
4. Num período de três anos, cerca de um terço dos doentes apresenta declínio cognitivo moderado;
5. A relação entre incapacidade neurológica e declínio cognitivo nos doentes EM-RR está dependente da duração da doença.

Em suma, os estudos apresentados poderão permitir, no futuro, identificar com maior precisão os doentes em risco de disfunção e/ou declínio cognitivo. Os resultados desta tese fornecem pistas sobre o intervalo de tempo mais adequado para iniciar uma intervenção precoce e dirigida que permita reduzir as manifestações cognitivas da EM, atualmente reconhecida como uma doença que atinge a globalidade das estruturas do SNC.

CAPÍTULO 4 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Charcot. (1877). Lectures on the Diseases of the Nervous System.(New Sydenham Society, London).
2. Clanet, M. (2008). Jean-Martin Charcot. 1825 to 1893. *International MS journal / MS Forum* 15, 59-61.
3. Benedict, R.H., and Zivadinov, R. (2011). Risk factors for and management of cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol* 7, 332-342.
4. Calabrese, M., Agosta, F., Rinaldi, F., Mattisi, I., Grossi, P., Favaretto, A., Atzori, M., Bernardi, V., Barachino, L., Rinaldi, L., et al. (2009). Cortical lesions and atrophy associated with cognitive impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Arch Neurol* 66, 1144-1150.
5. Calabrese, M., Favaretto, A., Poretto, V., Romualdi, C., Rinaldi, F., Mattisi, I., Morra, A., Perini, P., and Gallo, P. (2013). Low degree of cortical pathology is associated with benign course of multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 19, 904-911.
6. Houtchens, M.K., Benedict, R.H., Killiany, R., Sharma, J., Jaisani, Z., Singh, B., Weinstock-Guttman, B., Guttmann, C.R., and Bakshi, R. (2007). Thalamic atrophy and cognition in multiple sclerosis. *Neurology* 69, 1213-1223.
7. Kutzelnigg, A., and Lassmann, H. (2006). Cortical demyelination in multiple sclerosis: a substrate for cognitive deficits? *Journal of the neurological sciences* 245, 123-126.
8. Compston, A., and Coles, A. (2008). Multiple sclerosis. *Lancet* 372, 1502-1517.
9. Noseworthy, J.H., Lucchinetti, C., Rodriguez, M., and Weinshenker, B.G. (2000). Multiple sclerosis. *N Engl J Med* 343, 938-952.
10. Leray, E., Yaouanq, J., Le Page, E., Coustans, M., Laplaud, D., Oger, J., and Edan, G. (2010). Evidence for a two-stage disability progression in multiple sclerosis. *Brain : a journal of neurology* 133, 1900-1913.
11. Kasper, L.H., and Shoemaker, J. (2010). Multiple sclerosis immunology: The healthy immune system vs the MS immune system. *Neurology* 74 Suppl 1, S2-8.
12. Federation, M.S.I. (2013). *Atlas of MS* In. (
13. Lublin, F.D., and Reingold, S.C. (1996). Defining the clinical course of multiple sclerosis: results of an international survey. National Multiple Sclerosis Society (USA) Advisory Committee on Clinical Trials of New Agents in Multiple Sclerosis. *Neurology* 46, 907-911.
14. Confavreux, C., and Vukusic, S. (2006). Natural history of multiple sclerosis: a unifying concept. *Brain : a journal of neurology* 129, 606-616.
15. Miller, D.H., Weinshenker, B.G., Filippi, M., Banwell, B.L., Cohen, J.A., Freedman, M.S., Galetta, S.L., Hutchinson, M., Johnson, R.T., Kappos, L., et al. (2008). Differential diagnosis of suspected multiple sclerosis: a consensus approach. *Multiple sclerosis* 14, 1157-1174.
16. Thrower, B.W. (2007). Clinically isolated syndromes: predicting and delaying multiple sclerosis. *Neurology* 68, S12-15.
17. Miller, D.H., Chard, D.T., and Ciccarelli, O. (2012). Clinically isolated syndromes. *Lancet Neurol* 11, 157-169.
18. Montalban, X., Tintore, M., Swanton, J., Barkhof, F., Fazekas, F., Filippi, M., Frederiksen, J., Kappos, L., Palace, J., Polman, C., et al. (2010). MRI criteria for MS in patients with clinically isolated syndromes. *Neurology* 74, 427-434.
19. Polman, C.H., Reingold, S.C., Banwell, B., Clanet, M., Cohen, J.A., Filippi, M., Fujihara, K., Havrdova, E., Hutchinson, M., Kappos, L., et al. (2011). Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Annals of neurology* 69, 292-302.
20. Dalton, C.M., Bodini, B., Samson, R.S., Battaglini, M., Fisniku, L.K., Thompson, A.J., Ciccarelli, O., Miller, D.H., and Chard, D.T. (2012). Brain lesion location and clinical status 20 years after a diagnosis of clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 18, 322-328.

21. Confavreux, C., and Vukusic, S. (2006). Age at disability milestones in multiple sclerosis. *Brain : a journal of neurology* 129, 595-605.
22. Tutuncu, M., Tang, J., Zeid, N.A., Kale, N., Crusan, D.J., Atkinson, E.J., Siva, A., Pittock, S.J., Pirko, I., Keegan, B.M., et al. (2013). Onset of progressive phase is an age-dependent clinical milestone in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 19, 188-198.
23. Goodin, D. (2006). Age at disability milestones in multiple sclerosis and history of multiple sclerosis: a unifying concept. *Brain : a journal of neurology* 129, e56; author reply e57.
24. Tremlett, H., Zhao, Y., Devonshire, V., and Neurologists, U.B.C. (2009). Natural history comparisons of primary and secondary progressive multiple sclerosis reveals differences and similarities. *J Neurol* 256, 374-381.
25. Lassmann, H., Bruck, W., and Lucchinetti, C. (2001). Heterogeneity of multiple sclerosis pathogenesis: implications for diagnosis and therapy. *Trends Mol Med* 7, 115-121.
26. Lassmann, H. (2013). Pathology and disease mechanisms in different stages of multiple sclerosis. *Journal of the neurological sciences* 333, 1-4.
27. Lassmann, H. (2005). Multiple sclerosis pathology: evolution of pathogenetic concepts. *Brain Pathol* 15, 217-222.
28. Bruck, W. (2005). Clinical implications of neuropathological findings in multiple sclerosis. *J Neurol* 252 Suppl 3, iii10-iii14.
29. Ramsarasing, G.S., and De Keyser, J. (2006). Benign course in multiple sclerosis: a review. *Acta Neurol Scand* 113, 359-369.
30. Lebrun, C., Bensa, C., Debouverie, M., De Seze, J., Wiertlievski, S., Brochet, B., Clavelou, P., Brassat, D., Labauge, P., Rouillet, E., et al. (2008). Unexpected multiple sclerosis: follow-up of 30 patients with magnetic resonance imaging and clinical conversion profile. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 79, 195-198.
31. Lebrun, C., Bensa, C., Debouverie, M., Wiertlevski, S., Brassat, D., de Seze, J., Rumbach, L., Pelletier, J., Labauge, P., Brochet, B., et al. (2009). Association between clinical conversion to multiple sclerosis in radiologically isolated syndrome and magnetic resonance imaging, cerebrospinal fluid, and visual evoked potential: follow-up of 70 patients. *Arch Neurol* 66, 841-846.
32. Chataway, J. (2008). When the MRI scan suggests multiple sclerosis but the symptoms do not. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 79, 112-113.
33. Bourdette, D., and Yadav, V. (2011). The radiologically isolated syndrome revisited: when is it presymptomatic multiple sclerosis? *Neurology* 76, 680-681.
34. De Stefano, N., and Siva, A. (2013). The radiologically isolated syndrome dilemma: just an incidental radiological finding or presymptomatic multiple sclerosis? *Multiple sclerosis* 19, 257-258.
35. Granberg, T., Martola, J., Kristoffersen-Wiberg, M., Aspelin, P., and Fredrikson, S. (2013). Radiologically isolated syndrome--incidental magnetic resonance imaging findings suggestive of multiple sclerosis, a systematic review. *Multiple sclerosis* 19, 271-280.
36. Compston, A. (2012). The benign form of multiple sclerosis. A study based on 241 cases seen within three years of onset and followed up until the tenth year or more of the disease. By Douglas McAlpine. From the Institute of Clinical Research, The Middlesex Hospital Medical School, London W1. *Brain* 1961: 84; 186-203. *Brain : a journal of neurology* 135, 648-651.
37. Glad, S.B., Nyland, H.I., Aarseth, J.H., Riise, T., and Myhr, K.M. (2009). Long-term follow-up of benign multiple sclerosis in Hordaland County, Western Norway. *Multiple sclerosis* 15, 942-950.
38. Mujic, A., Liddell, J., Hunn, A., McArdle, J., and Beasley, A. (2002). Non-neoplastic demyelinating process mimicking a disseminated malignant brain tumour. *Journal of clinical neuroscience : official journal of the Neurosurgical Society of Australasia* 9, 313-317.
39. Simon, J.H., and Kleinschmidt-DeMasters, B.K. (2008). Variants of multiple sclerosis. *Neuroimaging clinics of North America* 18, 703-716, xi.

40. Youl, B.D., Kermode, A.G., Thompson, A.J., Revesz, T., Scaravilli, F., Barnard, R.O., Kirkham, F.J., Kendall, B.E., Kingsley, D., Moseley, I.F., et al. (1991). Destructive lesions in demyelinating disease. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 54, 288-292.
41. Kurtzke, J.F. (1983). Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology* 33, 1444-1452.
42. Vukusic, S., and Confavreux, C. (2007). Natural history of multiple sclerosis: risk factors and prognostic indicators. *Curr Opin Neurol* 20, 269-274.
43. Confavreux, C., Vukusic, S., and Adeleine, P. (2003). Early clinical predictors and progression of irreversible disability in multiple sclerosis: an amnesic process. *Brain : a journal of neurology* 126, 770-782.
44. Broman, T., Andersen, O., and Bergmann, L. (1981). Clinical studies on multiple sclerosis. I. Presentation of an incidence material from Gothenburg. *Acta Neurol Scand* 63, 6-33.
45. Runmarker, B., and Andersen, O. (1993). Prognostic factors in a multiple sclerosis incidence cohort with twenty-five years of follow-up. *Brain : a journal of neurology* 116 (Pt 1), 117-134.
46. Eriksson, M., Andersen, O., and Runmarker, B. (2003). Long-term follow up of patients with clinically isolated syndromes, relapsing-remitting and secondary progressive multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 9, 260-274.
47. Weinshenker, B.G., Bass, B., Rice, G.P., Noseworthy, J., Carriere, W., Baskerville, J., and Ebers, G.C. (1989). The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. 2. Predictive value of the early clinical course. *Brain : a journal of neurology* 112 (Pt 6), 1419-1428.
48. Tremlett, H., Yinshan, Z., and Devonshire, V. (2008). Natural history of secondary-progressive multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 14, 314-324.
49. Pittock, S.J., McClelland, R.L., Mayr, W.T., Jorgensen, N.W., Weinshenker, B.G., Noseworthy, J., and Rodriguez, M. (2004). Clinical implications of benign multiple sclerosis: a 20-year population-based follow-up study. *Annals of neurology* 56, 303-306.
50. Kremenchutzky, M., Rice, G.P., Baskerville, J., Wingerchuk, D.M., and Ebers, G.C. (2006). The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study 9: observations on the progressive phase of the disease. *Brain : a journal of neurology* 129, 584-594.
51. Tremlett, H., Paty, D., and Devonshire, V. (2006). Disability progression in multiple sclerosis is slower than previously reported. *Neurology* 66, 172-177.
52. Scalfari, A., Neuhaus, A., Degenhardt, A., Rice, G.P., Muraro, P.A., Daumer, M., and Ebers, G.C. (2010). The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study 10: relapses and long-term disability. *Brain : a journal of neurology* 133, 1914-1929.
53. Trojano, M., Pellegrini, F., Fuiani, A., Paolicelli, D., Zipoli, V., Zimatore, G.B., Di Monte, E., Portaccio, E., Lepore, V., Livrea, P., et al. (2007). New natural history of interferon-beta-treated relapsing multiple sclerosis. *Annals of neurology* 61, 300-306.
54. Trojano, M., Pellegrini, F., Paolicelli, D., Fuiani, A., Zimatore, G.B., Tortorella, C., Simone, I.L., Patti, F., Ghezzi, A., Zipoli, V., et al. (2009). Real-life impact of early interferon beta therapy in relapsing multiple sclerosis. *Annals of neurology* 66, 513-520.
55. Tedeholm, H., Lycke, J., Skoog, B., Lisovskaja, V., Hillert, J., Dahle, C., Fagius, J., Fredrikson, S., Landtblom, A.M., Malmstrom, C., et al. (2012). Time to secondary progression in patients with multiple sclerosis who were treated with first generation immunomodulating drugs. *Multiple sclerosis*.
56. Langer-Gould, A., Popat, R.A., Huang, S.M., Cobb, K., Fontoura, P., Gould, M.K., and Nelson, L.M. (2006). Clinical and demographic predictors of long-term disability in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: a systematic review. *Arch Neurol* 63, 1686-1691.
57. Koch, M., Kingwell, E., Rieckmann, P., Tremlett, H., and Neurologists, U.M.C. (2010). The natural history of secondary progressive multiple sclerosis. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 81, 1039-1043.

58. Scalfari, A., Neuhaus, A., Daumer, M., Deluca, G.C., Muraro, P.A., and Ebers, G.C. (2013). Early relapses, onset of progression, and late outcome in multiple sclerosis. *JAMA Neurol* 70, 214-222.
59. Comi, G., De Stefano, N., Freedman, M.S., Barkhof, F., Polman, C.H., Uitdehaag, B.M., Casset-Semanaz, F., Hennessy, B., Moraga, M.S., Rocak, S., et al. (2012). Comparison of two dosing frequencies of subcutaneous interferon beta-1a in patients with a first clinical demyelinating event suggestive of multiple sclerosis (REFLEX): a phase 3 randomised controlled trial. *Lancet Neurol* 11, 33-41.
60. Goodin, D.S., and Bates, D. (2009). Treatment of early multiple sclerosis: the value of treatment initiation after a first clinical episode. *Multiple sclerosis* 15, 1175-1182.
61. Goodin, D.S., Traboulsee, A., Knappertz, V., Reder, A.T., Li, D., Langdon, D., Wolf, C., Beckmann, K., Konieczny, A., Ebers, G.C., et al. (2012). Relationship between early clinical characteristics and long term disability outcomes: 16 year cohort study (follow-up) of the pivotal interferon beta-1b trial in multiple sclerosis. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 83, 282-287.
62. Coles, A.J., Cox, A., Le Page, E., Jones, J., Trip, S.A., Deans, J., Seaman, S., Miller, D.H., Hale, G., Waldmann, H., et al. (2006). The window of therapeutic opportunity in multiple sclerosis: evidence from monoclonal antibody therapy. *J Neurol* 253, 98-108.
63. Poser, C.M., and Brinar, V.V. (2004). Diagnostic criteria for multiple sclerosis: an historical review. *Clin Neurol Neurosurg* 106, 147-158.
64. Polman, C.H., Reingold, S.C., Edan, G., Filippi, M., Hartung, H.P., Kappos, L., Lublin, F.D., Metz, L.M., McFarland, H.F., O'Connor, P.W., et al. (2005). Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria". *Annals of neurology* 58, 840-846.
65. Schumacker, G.A., Beebe, G., Kibler, R.F., Kurland, L.T., Kurtzke, J.F., McDowell, F., Nagler, B., Sibley, W.A., Tourtellotte, W.W., and Willmon, T.L. (1965). Problems of Experimental Trials of Therapy in Multiple Sclerosis: Report by the Panel on the Evaluation of Experimental Trials of Therapy in Multiple Sclerosis. *Annals of the New York Academy of Sciences* 122, 552-568.
66. Poser, C.M. (1985). The course of multiple sclerosis. *Arch Neurol* 42, 1035.
67. McDonald, W.I., Compston, A., Edan, G., Goodkin, D., Hartung, H.P., Lublin, F.D., McFarland, H.F., Paty, D.W., Polman, C.H., Reingold, S.C., et al. (2001). Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Annals of neurology* 50, 121-127.
68. Swanton, J.K., Rovira, A., Tintore, M., Altmann, D.R., Barkhof, F., Filippi, M., Huerga, E., Miszkiel, K.A., Plant, G.T., Polman, C., et al. (2007). MRI criteria for multiple sclerosis in patients presenting with clinically isolated syndromes: a multicentre retrospective study. *Lancet Neurol* 6, 677-686.
69. Tintore, M., Rovira, A., Rio, J., Nos, C., Grive, E., Sastre-Garriga, J., Pericot, I., Sanchez, E., Comabella, M., and Montalban, X. (2003). New diagnostic criteria for multiple sclerosis: application in first demyelinating episode. *Neurology* 60, 27-30.
70. Dalton, C.M., Brex, P.A., Miszkiel, K.A., Hickman, S.J., MacManus, D.G., Plant, G.T., Thompson, A.J., and Miller, D.H. (2002). Application of the new McDonald criteria to patients with clinically isolated syndromes suggestive of multiple sclerosis. *Annals of neurology* 52, 47-53.
71. Moore, F., and Okuda, D.T. (2009). Incidental MRI anomalies suggestive of multiple sclerosis: the radiologically isolated syndrome. *Neurology* 73, 1714.
72. Fisniku, L.K., Brex, P.A., Altmann, D.R., Miszkiel, K.A., Benton, C.E., Lanyon, R., Thompson, A.J., and Miller, D.H. (2008). Disability and T2 MRI lesions: a 20-year follow-up of patients with relapse onset of multiple sclerosis. *Brain : a journal of neurology* 131, 808-817.
73. Brex, P.A., Ciccarelli, O., O'Riordan, J.I., Sailer, M., Thompson, A.J., and Miller, D.H. (2002). A longitudinal study of abnormalities on MRI and disability from multiple sclerosis. *N Engl J Med* 346, 158-164.
74. Rovaris, M., and Filippi, M. (1999). Magnetic resonance techniques to monitor disease evolution and treatment trial outcomes in multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* 12, 337-344.

75. Fisher, E., Rudick, R.A., Simon, J.H., Cutter, G., Baier, M., Lee, J.C., Miller, D., Weinstock-Guttman, B., Mass, M.K., Dougherty, D.S., et al. (2002). Eight-year follow-up study of brain atrophy in patients with MS. *Neurology* 59, 1412-1420.
76. Filippi, M., Rocca, M.A., Benedict, R.H., DeLuca, J., Geurts, J.J., Rombouts, S.A., Ron, M., and Comi, G. (2010). The contribution of MRI in assessing cognitive impairment in multiple sclerosis. *Neurology* 75, 2121-2128.
77. Schreiber, K., Sorensen, P.S., Koch-Henriksen, N., Wagner, A., Blinkenberg, M., Svarer, C., and Petersen, H.C. (2001). Correlations of brain MRI parameters to disability in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 104, 24-30.
78. van Walderveen, M.A., Barkhof, F., Tas, M.W., Polman, C., Frequin, S.T., Hommes, O.R., Thompson, A.J., and Valk, J. (1998). Patterns of brain magnetic resonance abnormalities on T2-weighted spin echo images in clinical subgroups of multiple sclerosis: a large cross-sectional study. *Eur Neurol* 40, 91-98.
79. Vellinga, M.M., Geurts, J.J., Rostrup, E., Uitdehaag, B.M., Polman, C.H., Barkhof, F., and Vrenken, H. (2009). Clinical correlations of brain lesion distribution in multiple sclerosis. *J Magn Reson Imaging* 29, 768-773.
80. Weatherby, S.J., Thomson, W., Pepper, L., Donn, R., Worthington, J., Mann, C.L., Davies, M.B., Fryer, A.A., Boggild, M.D., Young, C.A., et al. (2001). HLA-DRB1 and disease outcome in multiple sclerosis. *J Neurol* 248, 304-310.
81. Grasiot, B., Desgranges, B., Eustache, F., and Defer, G. (2009). Quantification and clinical relevance of brain atrophy in multiple sclerosis: a review. *J Neurol* 256, 1397-1412.
82. Miller, D.H., Barkhof, F., Frank, J.A., Parker, G.J., and Thompson, A.J. (2002). Measurement of atrophy in multiple sclerosis: pathological basis, methodological aspects and clinical relevance. *Brain : a journal of neurology* 125, 1676-1695.
83. Zivadinov, R., Sepcic, J., Nasuelli, D., De Masi, R., Bragadin, L.M., Tommasi, M.A., Zambito-Marsala, S., Moretti, R., Bratina, A., Ukmar, M., et al. (2001). A longitudinal study of brain atrophy and cognitive disturbances in the early phase of relapsing-remitting multiple sclerosis. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 70, 773-780.
84. Bergsland, N., Horakova, D., Dwyer, M.G., Dolezal, O., Seidl, Z.K., Vaneckova, M., Krasensky, J., Havrdova, E., and Zivadinov, R. (2012). Subcortical and cortical gray matter atrophy in a large sample of patients with clinically isolated syndrome and early relapsing-remitting multiple sclerosis. *AJNR American journal of neuroradiology* 33, 1573-1578.
85. Hagemeyer, J., Weinstock-Guttman, B., Heininen-Brown, M., Poloni, G.U., Bergsland, N., Schirda, C., Magnano, C.R., Kennedy, C., Carl, E., Dwyer, M.G., et al. (2013). Gray matter SWI-filtered phase and atrophy are linked to disability in MS. *Frontiers in bioscience* 5, 525-532.
86. Horakova, D., Dwyer, M.G., Havrdova, E., Cox, J.L., Dolezal, O., Bergsland, N., Rimes, B., Seidl, Z., Vaneckova, M., and Zivadinov, R. (2009). Gray matter atrophy and disability progression in patients with early relapsing-remitting multiple sclerosis: a 5-year longitudinal study. *Journal of the neurological sciences* 282, 112-119.
87. Zivadinov, R., and Zorzon, M. (2002). Is gadolinium enhancement predictive of the development of brain atrophy in multiple sclerosis? A review of the literature. *Journal of neuroimaging : official journal of the American Society of Neuroimaging* 12, 302-309.
88. Filippi, M., Rovaris, M., Inglese, M., Barkhof, F., De Stefano, N., Smith, S., and Comi, G. (2004). Interferon beta-1a for brain tissue loss in patients at presentation with syndromes suggestive of multiple sclerosis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 364, 1489-1496.
89. Kalkers, N.F., Bergers, E., Castelijns, J.A., van Walderveen, M.A., Bot, J.C., Ader, H.J., Polman, C.H., and Barkhof, F. (2001). Optimizing the association between disability and biological markers in MS. *Neurology* 57, 1253-1258.
90. Freedman, M.S., Selchen, D., Arnold, D.L., Prat, A., Banwell, B., Yeung, M., Morgenthau, D., Lapierre, Y., and On Behalf Of The Canadian Multiple Sclerosis Working, G. (2013). Treatment Optimization in MS: Canadian MS Working Group Updated Recommendations. *Can J Neurol Sci* 40, 307-323.

91. Giovannoni, G., and Ebers, G. (2007). Multiple sclerosis: the environment and causation. *Curr Opin Neurol* 20, 261-268.
92. Ramagopalan, S.V., Dobson, R., Meier, U.C., and Giovannoni, G. (2010). Multiple sclerosis: risk factors, prodromes, and potential causal pathways. *Lancet Neurol* 9, 727-739.
93. Baranzini, S.E. (2011). Revealing the genetic basis of multiple sclerosis: are we there yet? *Curr Opin Genet Dev* 21, 317-324.
94. Gold, R., Linington, C., and Lassmann, H. (2006). Understanding pathogenesis and therapy of multiple sclerosis via animal models: 70 years of merits and culprits in experimental autoimmune encephalomyelitis research. *Brain : a journal of neurology* 129, 1953-1971.
95. Tzartos, J.S., Friese, M.A., Craner, M.J., Palace, J., Newcombe, J., Esiri, M.M., and Fugger, L. (2008). Interleukin-17 production in central nervous system-infiltrating T cells and glial cells is associated with active disease in multiple sclerosis. *Am J Pathol* 172, 146-155.
96. Ramagopalan, S.V., Deluca, G.C., Degenhardt, A., and Ebers, G.C. (2008). The genetics of clinical outcome in multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology* 201-202, 183-199.
97. Bettencourt, A., Martins da Silva, A., Pinho, E.C.P., and Martins Silva, B. (2012). Molecular genetic studies of multiple sclerosis in the portuguese population. *Acta Med Port* 25, 224-230.
98. Gourraud, P.A., Harbo, H.F., Hauser, S.L., and Baranzini, S.E. (2012). The genetics of multiple sclerosis: an up-to-date review. *Immunol Rev* 248, 87-103.
99. Barcellos, L.F., Kamdar, B.B., Ramsay, P.P., DeLoa, C., Lincoln, R.R., Caillier, S., Schmidt, S., Haines, J.L., Pericak-Vance, M.A., Oksenberg, J.R., et al. (2006). Clustering of autoimmune diseases in families with a high-risk for multiple sclerosis: a descriptive study. *Lancet Neurol* 5, 924-931.
100. Filippini, G., Del Giovane, C., Vacchi, L., D'Amico, R., Di Pietrantonj, C., Beecher, D., and Salanti, G. (2013). Immunomodulators and immunosuppressants for multiple sclerosis: a network meta-analysis. *Cochrane Database Syst Rev* 6, CD008933.
101. Hartung, H.P., Montalban, X., Sorensen, P.S., Vermersch, P., and Olsson, T. (2011). Principles of a new treatment algorithm in multiple sclerosis. *Expert Rev Neurother* 11, 351-362.
102. Jersild, C., Svejgaard, A., and Fog, T. (1972). HL-A antigens and multiple sclerosis. *Lancet* 1, 1240-1241.
103. Sawcer, S., Hellenthal, G., Pirinen, M., Spencer, C.C., Patsopoulos, N.A., Moutsianas, L., Dilthey, A., Su, Z., Freeman, C., Hunt, S.E., et al. (2011). Genetic risk and a primary role for cell-mediated immune mechanisms in multiple sclerosis. *Nature* 476, 214-219.
104. Sawcer, S., and Compston, A. (2003). The genetic analysis of multiple sclerosis in Europeans: concepts and design. *Journal of neuroimmunology* 143, 13-16.
105. Martins Silva, B., Thorlacius, T., Benediktsson, K., Pereira, C., Fossdal, R., Jonsson, H.H., Silva, A., Leite, I., Cerqueira, J., Costa, P.P., et al. (2003). A whole genome association study in multiple sclerosis patients from north Portugal. *Journal of neuroimmunology* 143, 116-119.
106. Santos, M., Pinto-Basto, J., Rio, M.E., Sa, M.J., Valenca, A., Sa, A., Dinis, J., Figueiredo, J., Bigotte de Almeida, L., Coelho, I., et al. (2003). A whole genome screen for association with multiple sclerosis in Portuguese patients. *Journal of neuroimmunology* 143, 112-115.
107. Sawcer, S. (2008). The complex genetics of multiple sclerosis: pitfalls and prospects. *Brain : a journal of neurology* 131, 3118-3131.
108. Fugger, L., Friese, M.A., and Bell, J.I. (2009). From genes to function: the next challenge to understanding multiple sclerosis. *Nat Rev Immunol* 9, 408-417.
109. Link, J., Lorentzen, A.R., Kockum, I., Duvefelt, K., Lie, B.A., Celius, E.G., Harbo, H.F., Hillert, J., and Brynedal, B. (2010). Two HLA class I genes independently associated with multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology* 226, 172-176.
110. Silva, A.M., Bettencourt, A., Pereira, C., Santos, E., Carvalho, C., Mendonca, D., Costa, P.P., Monteiro, L., and Martins, B. (2009). Protective role of the HLA-A*02 allele in Portuguese patients with multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 15, 771-774.

111. Link, J., Kockum, I., Lorentzen, A.R., Lie, B.A., Celius, E.G., Westerlind, H., Schaffer, M., Alfredsson, L., Olsson, T., Brynedal, B., et al. (2012). Importance of human leukocyte antigen (HLA) class I and II alleles on the risk of multiple sclerosis. *PloS one* 7, e36779.
112. Harbo, H.F., Lie, B.A., Sawcer, S., Celius, E.G., Dai, K.Z., Oturai, A., Hillert, J., Lorentzen, A.R., Laaksonen, M., Myhr, K.M., et al. (2004). Genes in the HLA class I region may contribute to the HLA class II-associated genetic susceptibility to multiple sclerosis. *Tissue Antigens* 63, 237-247.
113. Ascherio, A. (2013). Environmental factors in multiple sclerosis. *Expert Rev Neurother* 13, 3-9.
114. Ascherio, A., Munger, K.L., and Lunemann, J.D. (2012). The initiation and prevention of multiple sclerosis. *Nat Rev Neurol* 8, 602-612.
115. Ramagopalan, S.V., and Giovannoni, G. (2009). Can we predict multiple sclerosis? *Lancet Neurol* 8, 1077-1079.
116. Barros, P., de Sa, J.M., and Sa, M.J. (2013). Month of birth and risk of multiple sclerosis in a Portuguese population. *Clin Neurol Neurosurg* 115, 1762-1765.
117. De Sa, J., Paulos, A., Mendes, H., Becho, J., Marques, J., and Roxo, J. (2006). The prevalence of multiple sclerosis in the District of Santarem, Portugal. *J Neurol* 253, 914-918.
118. de Sa, J. (2010). [Epidemiology of multiple sclerosis in Portugal and Spain]. *Rev Neurol* 51, 387-392.
119. de Sa, J., Alcalde-Cabero, E., Almazan-Isla, J., Sempere, A., and de Pedro-Cuesta, J. (2012). Capture-recapture as a potentially useful procedure for assessing prevalence of multiple sclerosis: methodologic exercise using Portuguese data. *Neuroepidemiology* 38, 209-216.
120. International Multiple Sclerosis Genetics, C., Beecham, A.H., Patsopoulos, N.A., Xifara, D.K., Davis, M.F., Kempainen, A., Cotsapas, C., Shah, T.S., Spencer, C., Booth, D., et al. (2013). Analysis of immune-related loci identifies 48 new susceptibility variants for multiple sclerosis. *Nat Genet* 45, 1353-1360.
121. Patsopoulos, N.A., Barcellos, L.F., Hintzen, R.Q., Schaefer, C., van Duijn, C.M., Noble, J.A., Raj, T., Imsgc, Anzgene, Gourraud, P.A., et al. (2013). Fine-Mapping the Genetic Association of the Major Histocompatibility Complex in Multiple Sclerosis: HLA and Non-HLA Effects. *PLoS Genet* 9, e1003926.
122. Oksenberg, J.R. (2013). Decoding multiple sclerosis: an update on genomics and future directions. *Expert Rev Neurother* 13, 11-19.
123. Esposito, F., and De Jager, P.L. (2010). Uncovering the genetic architecture of multiple sclerosis. *Continuum (Minneapolis)* 16, 147-165.
124. Jilek, S., Schluep, M., Meylan, P., Vingerhoets, F., Guignard, L., Monney, A., Kleeberg, J., Le Goff, G., Pantaleo, G., and Du Pasquier, R.A. (2008). Strong EBV-specific CD8+ T-cell response in patients with early multiple sclerosis. *Brain : a journal of neurology* 131, 1712-1721.
125. Lunemann, J.D., Jelcic, I., Roberts, S., Lutterotti, A., Tackenberg, B., Martin, R., and Munz, C. (2008). EBNA1-specific T cells from patients with multiple sclerosis cross react with myelin antigens and co-produce IFN-gamma and IL-2. *J Exp Med* 205, 1763-1773.
126. DeMoerloose PH, J., Martins-da-SilvaB, Werner-FavreC, Rohr J, Gauthier G. (1978). HLA-DRW antigens and multiple sclerosis. *Schweiz Arch Neurol Neurochir Psychiatr* 123, 51-61.
127. Silva, A.M., Pereira, C., Bettencourt, A., Carvalho, C., Couto, A.R., Leite, M.I., Marta, M., Freijo, M., Costa, P.P., Mendonca, D., et al. (2007). The role of HLA-DRB1 alleles on susceptibility and outcome of a Portuguese Multiple Sclerosis population. *Journal of the neurological sciences* 258, 69-74.
128. Bettencourt, A., Silva, A.M., Carvalho, C., Leal, B., Santos, E., Costa, P.P., and Silva, B.M. (2014). The role of KIR2DS1 in multiple sclerosis: KIR in Portuguese MS patients. *Journal of neuroimmunology*.
129. Bettencourt, A., Silva, A.M., Santos, E., Gomes, S., Mendonca, D., Costa, P.P., Faustino, P., and Silva, B.M. (2011). HFE gene polymorphisms and severity in Portuguese patients with multiple

sclerosis. *European journal of neurology : the official journal of the European Federation of Neurological Societies* 18, 663-666.

130. Kantarci, O.H., de Andrade, M., and Weinshenker, B.G. (2002). Identifying disease modifying genes in multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology* 123, 144-159.

131. Chataway, J., Mander, A., Robertson, N., Sawcer, S., Deans, J., Fraser, M., Broadley, S., Clayton, D., and Compston, A. (2001). Multiple sclerosis in sibling pairs: an analysis of 250 families. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 71, 757-761.

132. Hensiek, A.E., Seaman, S.R., Barcellos, L.F., Oturai, A., Eraksoi, M., Cocco, E., Vecsei, L., Stewart, G., Dubois, B., Bellman-Strobl, J., et al. (2007). Familial effects on the clinical course of multiple sclerosis. *Neurology* 68, 376-383.

133. Nischwitz, S., Muller-Myhsok, B., and Weber, F. (2011). Risk conferring genes in multiple sclerosis. *FEBS Lett* 585, 3789-3797.

134. Okuda, D.T., Srinivasan, R., Oksenberg, J.R., Goodin, D.S., Baranzini, S.E., Beheshtian, A., Waubant, E., Zamvil, S.S., Leppert, D., Qualley, P., et al. (2009). Genotype-Phenotype correlations in multiple sclerosis: HLA genes influence disease severity inferred by 1HMR spectroscopy and MRI measures. *Brain : a journal of neurology* 132, 250-259.

135. Van der Walt, A., Stankovich, J., Bahlo, M., Taylor, B.V., Van der Mei, I.A., Foote, S.J., Rubio, J.P., Kilpatrick, T.J., and Butzkueven, H. (2011). Heterogeneity at the HLA-DRB1 allelic variation locus does not influence multiple sclerosis disease severity, brain atrophy or cognition. *Multiple sclerosis* 17, 344-352.

136. Leray, E., Coustans, M., Le Page, E., Yaouanq, J., Oger, J., and Edan, G. (2012). 'Clinically definite benign multiple sclerosis', an unwarranted conceptual hodgepodge: evidence from a 30-year observational study. *Multiple sclerosis*.

137. Pittock, S.J., and Rodriguez, M. (2008). Benign multiple sclerosis: a distinct clinical entity with therapeutic implications. *Curr Top Microbiol Immunol* 318, 1-17.

138. Bird, T.D., Jarvik, G.P., and Wood, N.W. (2001). Genetic association studies: genes in search of diseases. *Neurology* 57, 1153-1154.

139. de la Concha, E.G., Arroyo, R., Crusius, J.B., Campillo, J.A., Martin, C., Varela de Seijas, E., Pena, A.S., Claveria, L.E., and Fernandez-Arquero, M. (1997). Combined effect of HLA-DRB1*1501 and interleukin-1 receptor antagonist gene allele 2 in susceptibility to relapsing/remitting multiple sclerosis. *Journal of neuroimmunology* 80, 172-178.

140. Madigand, M., Oger, J.J., Fauchet, R., Sabouraud, O., and Genetet, B. (1982). HLA profiles in multiple sclerosis suggest two forms of disease and the existence of protective haplotypes. *Journal of the neurological sciences* 53, 519-529.

141. Zivadinov, R., Uxa, L., Bratina, A., Bosco, A., Srinivasaraghavan, B., Minagar, A., Ukmar, M., Benedetto, S., and Zorzon, M. (2007). HLA-DRB1*1501, -DQB1*0301, -DQB1*0302, -DQB1*0602, and -DQB1*0603 alleles are associated with more severe disease outcome on MRI in patients with multiple sclerosis. *Int Rev Neurobiol* 79, 521-535.

142. Zivadinov, R., Uxa, L., Zacchi, T., Nasuelli, D., Ukmar, M., Furlan, C., Pozzi-Mucelli, R., Tommasi, M.A., Locatelli, L., Ulivi, S., et al. (2003). HLA genotypes and disease severity assessed by magnetic resonance imaging findings in patients with multiple sclerosis. *J Neurol* 250, 1099-1106.

143. Liguori, M., Healy, B.C., Glanz, B.I., Khoury, S.J., Moscufo, N., Weiner, H.L., De Jager, P.L., and Guttman, C.R. (2011). HLA (A-B-C and -DRB1) alleles and brain MRI changes in multiple sclerosis: a longitudinal study. *Genes Immun* 12, 183-190.

144. Beffert, U., Danik, M., Krzykowski, P., Ramassamy, C., Berrada, F., and Poirier, J. (1998). The neurobiology of apolipoproteins and their receptors in the CNS and Alzheimer's disease. *Brain research Brain research reviews* 27, 119-142.

145. Zhang, H.L., Wu, J., and Zhu, J. (2010). The immune-modulatory role of apolipoprotein E with emphasis on multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis. *Clinical & developmental immunology* 2010, 186813.

146. Santos, M., Costa, M.C., Edite Rio, M., Jose Sa, M., Monteiro, M., Valenca, A., Sa, A., Dinis, J., Figueiredo, J., Bigotte de Almeida, L., et al. (2004). Genotypes at the APOE and SCA2 loci do not predict the course of multiple sclerosis in patients of Portuguese origin. *Multiple sclerosis* 10, 153-157.
147. Sena, A., Couderc, R., Ferret-Sena, V., Pedrosa, R., Andrade, M.L., Araujo, C., Roque, R., Cascais, M.J., and Morais, M.G. (2009). Apolipoprotein E polymorphism interacts with cigarette smoking in progression of multiple sclerosis. *European journal of neurology : the official journal of the European Federation of Neurological Societies* 16, 832-837.
148. Burwick, R.M., Ramsay, P.P., Haines, J.L., Hauser, S.L., Oksenberg, J.R., Pericak-Vance, M.A., Schmidt, S., Compston, A., Sawcer, S., Cittadella, R., et al. (2006). APOE epsilon variation in multiple sclerosis susceptibility and disease severity: some answers. *Neurology* 66, 1373-1383.
149. Fazekas, F., Enzinger, C., Ropele, S., Schmidt, H., Schmidt, R., and Strasser-Fuchs, S. (2006). The impact of our genes: consequences of the apolipoprotein E polymorphism in Alzheimer disease and multiple sclerosis. *Journal of the neurological sciences* 245, 35-39.
150. Fazekas, F., Strasser-Fuchs, S., Schmidt, H., Enzinger, C., Ropele, S., Lechner, A., Flooh, E., Schmidt, R., and Hartung, H.P. (2000). Apolipoprotein E genotype related differences in brain lesions of multiple sclerosis. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 69, 25-28.
151. Enzinger, C., Ropele, S., Smith, S., Strasser-Fuchs, S., Poltrum, B., Schmidt, H., Matthews, P.M., and Fazekas, F. (2004). Accelerated evolution of brain atrophy and "black holes" in MS patients with APOE-epsilon 4. *Annals of neurology* 55, 563-569.
152. De Stefano, N., Bartolozzi, M.L., Nacmias, B., Zipoli, V., Mortilla, M., Guidi, L., Siracusa, G., Sorbi, S., Federico, A., and Amato, M.P. (2004). Influence of apolipoprotein E epsilon4 genotype on brain tissue integrity in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Arch Neurol* 61, 536-540.
153. Enzinger, C., Ropele, S., Strasser-Fuchs, S., Kapeller, P., Schmidt, H., Poltrum, B., Schmidt, R., Hartung, H.P., and Fazekas, F. (2003). Lower levels of N-acetylaspartate in multiple sclerosis patients with the apolipoprotein E epsilon4 allele. *Arch Neurol* 60, 65-70.
154. Schreiber, K., Otura, A.B., Ryder, L.P., Madsen, H.O., Jorgensen, O.S., Svejgaard, A., and Sorensen, P.S. (2002). Disease severity in Danish multiple sclerosis patients evaluated by MRI and three genetic markers (HLA-DRB1*1501, CCR5 deletion mutation, apolipoprotein E). *Multiple sclerosis* 8, 295-298.
155. van der Walt, A., Stankovich, J., Bahlo, M., Taylor, B.V., van der Mei, I.A., Foote, S.J., Kilpatrick, T.J., Rubio, J.P., and Butzkueven, H. (2009). Apolipoprotein genotype does not influence MS severity, cognition, or brain atrophy. *Neurology* 73, 1018-1025.
156. Zakrzewska-Pniewska, B., Styczynska, M., Podlecka, A., Samocka, R., Peplonska, B., Barcikowska, M., and Kwiecinski, H. (2004). Association of apolipoprotein E and myeloperoxidase genotypes to clinical course of familial and sporadic multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 10, 266-271.
157. Zwemmer, J.N., van Veen, T., van Winsen, L., van Kamp, G.J., Barkhof, F., Polman, C.H., and Uitdehaag, B.M. (2004). No major association of ApoE genotype with disease characteristics and MRI findings in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 10, 272-277.
158. Richard S.J. Frackowiack, K.J.F., Christopher D. Frith, Raymond J.Dolan, Cathy J.Price, Semir Zeki, John Ashburner, William Penny (2004). *Human Brain Function* (Elsevier Academic Press).
159. Filley, C.M. (2005). White matter and behavioral neurology. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1064, 162-183.
160. Fields, R.D. (2008). White matter in learning, cognition and psychiatric disorders. *Trends Neurosci* 31, 361-370.
161. Filley, C.M. (2005). Neurobehavioral aspects of cerebral white matter disorders. *Psychiatr Clin North Am* 28, 685-700, 697-688.
162. Hakak, Y., Walker, J.R., Li, C., Wong, W.H., Davis, K.L., Buxbaum, J.D., Haroutunian, V., and Fienberg, A.A. (2001). Genome-wide expression analysis reveals dysregulation of myelination-related genes in chronic schizophrenia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98, 4746-4751.

163. Rao, S.M. (1995). Neuropsychology of multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* 8, 216-220.
164. Feinstein A., D.J., Baune B.T., Filippi M., Lassman H. (2013). Cognitive and neuropsychiatric disease manifestations in MS Multiple sclerosis and related Disorders 2, 4-12.
165. Langdon, D.W. (2011). Cognition in multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* 24, 244-249.
166. Chiaravalloti, N.D., and DeLuca, J. (2008). Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 7, 1139-1151.
167. Guimaraes, J., and Sa, M.J. (2012). Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Frontiers in neurology* 3, 74.
168. Dineen, R.A., Vilisaar, J., Hlinka, J., Bradshaw, C.M., Morgan, P.S., Constantinescu, C.S., and Auer, D.P. (2009). Disconnection as a mechanism for cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Brain : a journal of neurology* 132, 239-249.
169. Mitchell, A.J., Benito-Leon, J., Gonzalez, J.M., and Rivera-Navarro, J. (2005). Quality of life and its assessment in multiple sclerosis: integrating physical and psychological components of wellbeing. *Lancet Neurol* 4, 556-566.
170. Rao, S.M., Leo, G.J., Ellington, L., Nauertz, T., Bernardin, L., and Unverzagt, F. (1991). Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. II. Impact on employment and social functioning. *Neurology* 41, 692-696.
171. Glanz, B.I., Healy, B.C., Rintell, D.J., Jaffin, S.K., Bakshi, R., and Weiner, H.L. (2010). The association between cognitive impairment and quality of life in patients with early multiple sclerosis. *Journal of the neurological sciences* 290, 75-79.
172. Strober, L.B., Christodoulou, C., Benedict, R.H., Westervelt, H.J., Melville, P., Scherl, W.F., Weinstock-Guttman, B., Rizvi, S., Goodman, A.D., and Krupp, L.B. (2012). Unemployment in multiple sclerosis: the contribution of personality and disease. *Multiple sclerosis* 18, 647-653.
173. Honarmand, K., Akbar, N., Kou, N., and Feinstein, A. (2011). Predicting employment status in multiple sclerosis patients: the utility of the MS functional composite. *J Neurol* 258, 244-249.
174. Amato, M.P., Ponziani, G., Siracusa, G., and Sorbi, S. (2001). Cognitive dysfunction in early-onset multiple sclerosis: a reappraisal after 10 years. *Arch Neurol* 58, 1602-1606.
175. Benedict, R.H., Wahlig, E., Bakshi, R., Fishman, I., Munschauer, F., Zivadinov, R., and Weinstock-Guttman, B. (2005). Predicting quality of life in multiple sclerosis: accounting for physical disability, fatigue, cognition, mood disorder, personality, and behavior change. *Journal of the neurological sciences* 231, 29-34.
176. Schultheis, M.T., Garay, E., and DeLuca, J. (2001). The influence of cognitive impairment on driving performance in multiple sclerosis. *Neurology* 56, 1089-1094.
177. Amato, M.P., Ponziani, G., Pracucci, G., Bracco, L., Siracusa, G., and Amaducci, L. (1995). Cognitive impairment in early-onset multiple sclerosis. Pattern, predictors, and impact on everyday life in a 4-year follow-up. *Arch Neurol* 52, 168-172.
178. Kujala, P., Portin, R., and Ruutinen, J. (1997). The progress of cognitive decline in multiple sclerosis. A controlled 3-year follow-up. *Brain : a journal of neurology* 120 (Pt 2), 289-297.
179. Rao, S.M., Leo, G.J., Bernardin, L., and Unverzagt, F. (1991). Cognitive dysfunction in multiple sclerosis. I. Frequency, patterns, and prediction. *Neurology* 41, 685-691.
180. De Sonneville, L.M., Boringa, J.B., Reuling, I.E., Lazeron, R.H., Ader, H.J., and Polman, C.H. (2002). Information processing characteristics in subtypes of multiple sclerosis. *Neuropsychologia* 40, 1751-1765.
181. Camp, S.J., Stevenson, V.L., Thompson, A.J., Miller, D.H., Borrás, C., Auriacombe, S., Brochet, B., Falautano, M., Filippi, M., Herisse-Dulo, L., et al. (1999). Cognitive function in primary progressive and transitional progressive multiple sclerosis: a controlled study with MRI correlates. *Brain : a journal of neurology* 122 (Pt 7), 1341-1348.
182. Achiron, A., Polliack, M., Rao, S.M., Barak, Y., Lavie, M., Appelboim, N., and Harel, Y. (2005). Cognitive patterns and progression in multiple sclerosis: construction and validation of percentile curves. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 76, 744-749.

183. Nocentini, U., Pasqualetti, P., Bonavita, S., Buccafusca, M., De Caro, M.F., Farina, D., Girlanda, P., Le Pira, F., Lugaresi, A., Quattrone, A., et al. (2006). Cognitive dysfunction in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 12, 77-87.
184. Jonsson, A., Andresen, J., Storr, L., Tscherning, T., Soelberg Sorensen, P., and Ravnborg, M. (2006). Cognitive impairment in newly diagnosed multiple sclerosis patients: a 4-year follow-up study. *Journal of the neurological sciences* 245, 77-85.
185. Koutsis, G., Panas, M., Karadima, G., Mandellos, D., Sfagos, C., Potagas, C., and Vassilopoulos, D. (2007). APOE genotypes in Greek multiple sclerosis patients: no effect on the MS Severity Score. *J Neurol* 254, 394-395.
186. Amato, M.P., Portaccio, E., Goretti, B., Zipoli, V., Hakiki, B., Giannini, M., Pasto, L., and Razzolini, L. (2010). Cognitive impairment in early stages of multiple sclerosis. *Neurol Sci* 31, S211-214.
187. Patti, F., Amato, M.P., Trojano, M., Bastianello, S., Tola, M.R., Goretti, B., Caniatti, L., Di Monte, E., Ferrazza, P., Brescia Morra, V., et al. (2009). Cognitive impairment and its relation with disease measures in mildly disabled patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: baseline results from the Cognitive Impairment in Multiple Sclerosis (COGIMUS) study. *Multiple sclerosis* 15, 779-788.
188. Piras, M.R., Magnano, I., Canu, E.D., Paulus, K.S., Satta, W.M., Soddu, A., Conti, M., Achene, A., Solinas, G., and Aiello, I. (2003). Longitudinal study of cognitive dysfunction in multiple sclerosis: neuropsychological, neuroradiological, and neurophysiological findings. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 74, 878-885.
189. Peyser, J.M., Rao, S.M., LaRocca, N.G., and Kaplan, E. (1990). Guidelines for neuropsychological research in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 47, 94-97.
190. Achiron, A., Chapman, J., Magalashvili, D., Dolev, M., Lavie, M., Bercovich, E., Polliack, M., Doniger, G.M., Stern, Y., Khilkevich, O., et al. (2013). Modeling of cognitive impairment by disease duration in multiple sclerosis: a cross-sectional study. *PloS one* 8, e71058.
191. Parsons, O.A., Stewart, K.D., and Arenberg, D. (1957). Impairment of abstracting ability in multiple sclerosis. *The Journal of nervous and mental disease* 125, 221-225.
192. Amato, M.P., Zipoli, V., Goretti, B., Portaccio, E., De Caro, M.F., Ricchiuti, L., Siracusa, G., Masini, M., Sorbi, S., and Trojano, M. (2006). Benign multiple sclerosis: cognitive, psychological and social aspects in a clinical cohort. *J Neurol* 253, 1054-1059.
193. Amato, M.P., Zipoli, V., and Portaccio, E. (2006). Multiple sclerosis-related cognitive changes: a review of cross-sectional and longitudinal studies. *Journal of the neurological sciences* 245, 41-46.
194. Arnett, P.A., and Strober, L.B. (2011). Cognitive and neurobehavioral features in multiple sclerosis. *Expert Rev Neurother* 11, 411-424.
195. Lovera, J., and Kovner, B. (2012). Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Curr Neurol Neurosci Rep* 12, 618-627.
196. Achiron, A., and Barak, Y. (2006). Cognitive changes in early MS: a call for a common framework. *Journal of the neurological sciences* 245, 47-51.
197. Hoffmann, S., Tittgemeyer, M., and von Cramon, D.Y. (2007). Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Curr Opin Neurol* 20, 275-280.
198. McIntosh-Michaelis, S.A., Roberts, M.H., Wilkinson, S.M., Diamond, I.D., McLellan, D.L., Martin, J.P., and Spackman, A.J. (1991). The prevalence of cognitive impairment in a community survey of multiple sclerosis. *Br J Clin Psychol* 30 (Pt 4), 333-348.
199. Comi, G. (2006). Early treatment. *Neurol Sci* 27 Suppl 1, S8-12.
200. Olivares, T., Nieto, A., Sanchez, M.P., Wollmann, T., Hernandez, M.A., and Barroso, J. (2005). Pattern of neuropsychological impairment in the early phase of relapsing-remitting multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 11, 191-197.
201. Benedict, R.H., and Fazekas, F. (2009). Benign or not benign MS: a role for routine neuropsychological assessment? *Neurology* 73, 494-495.

202. Feuillet, L., Reuter, F., Audoin, B., Malikova, I., Barrau, K., Cherif, A.A., and Pelletier, J. (2007). Early cognitive impairment in patients with clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 13, 124-127.
203. Potagas, C., Giogkaraki, E., Koutsis, G., Mandellos, D., Tsirempolou, E., Sfagos, C., and Vassilopoulos, D. (2008). Cognitive impairment in different MS subtypes and clinically isolated syndromes. *Journal of the neurological sciences* 267, 100-106.
204. Reuter, F., Zaaraoui, W., Crespy, L., Faivre, A., Rico, A., Malikova, I., Confort-Gouny, S., Cozzone, P.J., Ranjeva, J.P., Pelletier, J., et al. (2011). Cognitive impairment at the onset of multiple sclerosis: relationship to lesion location. *Multiple sclerosis* 17, 755-758.
205. Gadea, M., Martinez-Bisbal, M.C., Marti-Bonmati, L., Espert, R., Casanova, B., Coret, F., and Celda, B. (2004). Spectroscopic axonal damage of the right locus coeruleus relates to selective attention impairment in early stage relapsing-remitting multiple sclerosis. *Brain : a journal of neurology* 127, 89-98.
206. Reuter, F., Zaaraoui, W., Crespy, L., Faivre, A., Rico, A., Malikova, I., Soulier, E., Viout, P., Ranjeva, J.P., Pelletier, J., et al. (2011). Frequency of cognitive impairment dramatically increases during the first 5 years of multiple sclerosis. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 82, 1157-1159.
207. Amato, M.P., Hakiki, B., Goretti, B., Rossi, F., Stromillo, M.L., Giorgio, A., Roscio, M., Ghezzi, A., Guidi, L., Bartolozzi, M.L., et al. (2012). Association of MRI metrics and cognitive impairment in radiologically isolated syndromes. *Neurology* 78, 309-314.
208. Zipoli, V., Goretti, B., Hakiki, B., Siracusa, G., Sorbi, S., Portaccio, E., and Amato, M.P. (2010). Cognitive impairment predicts conversion to multiple sclerosis in clinically isolated syndromes. *Multiple sclerosis* 16, 62-67.
209. Kinkel, R.P., Dontchev, M., Kollman, C., Skaramagas, T.T., O'Connor, P.W., Simon, J.H., and Controlled High-Risk Avonex Multiple Sclerosis Prevention Study in Ongoing Neurological Surveillance, I. (2012). Association between immediate initiation of intramuscular interferon beta-1a at the time of a clinically isolated syndrome and long-term outcomes: a 10-year follow-up of the Controlled High-Risk Avonex Multiple Sclerosis Prevention Study in Ongoing Neurological Surveillance. *Arch Neurol* 69, 183-190.
210. Novakova, L., Skoog, B., Runmarker, B., Ekholm, S., Winblad, S., Lisovskaja, V., and Andersen, O. (2013). Clinically isolated syndromes with no further disease activity suggestive of multiple sclerosis at the age of population life expectancy. *Multiple sclerosis*.
211. Amato, M.P., Langdon, D., Montalban, X., Benedict, R.H., Deluca, J., Krupp, L.B., Thompson, A.J., and Comi, G. (2012). Treatment of cognitive impairment in multiple sclerosis: position paper. *J Neurol*.
212. Camp, S.J., Stevenson, V.L., Thompson, A.J., Ingle, G.T., Miller, D.H., Borrás, C., Brochet, B., Dousset, V., Falautano, M., Filippi, M., et al. (2005). A longitudinal study of cognition in primary progressive multiple sclerosis. *Brain : a journal of neurology* 128, 2891-2898.
213. Fischer, J.S., Priore, R.L., Jacobs, L.D., Cookfair, D.L., Rudick, R.A., Herndon, R.M., Richert, J.R., Salazar, A.M., Goodkin, D.E., Granger, C.V., et al. (2000). Neuropsychological effects of interferon beta-1a in relapsing multiple sclerosis. Multiple Sclerosis Collaborative Research Group. *Annals of neurology* 48, 885-892.
214. Petersen, R.C., Smith, G.E., Waring, S.C., Ivnik, R.J., Tangalos, E.G., and Kokmen, E. (1999). Mild cognitive impairment: clinical characterization and outcome. *Arch Neurol* 56, 303-308.
215. Petersen, R.C., Smith, G.E., Waring, S.C., Ivnik, R.J., Kokmen, E., and Tangalos, E.G. (1997). Aging, memory, and mild cognitive impairment. *Int Psychogeriatr* 9 Suppl 1, 65-69.
216. Caviness, J.N., Driver-Dunckley, E., Connor, D.J., Sabbagh, M.N., Hentz, J.G., Noble, B., Evidente, V.G., Shill, H.A., and Adler, C.H. (2007). Defining mild cognitive impairment in Parkinson's disease. *Mov Disord* 22, 1272-1277.
217. Christa Maree Stephan, B., Minett, T., Pagett, E., Siervo, M., Brayne, C., and McKeith, I.G. (2013). Diagnosing Mild Cognitive Impairment (MCI) in clinical trials: a systematic review. *BMJ Open* 3.

218. Stewart, R. (2012). Mild cognitive impairment--the continuing challenge of its "real-world" detection and diagnosis. *Arch Med Res* 43, 609-614.
219. Svenningsson, P., Westman, E., Ballard, C., and Aarsland, D. (2012). Cognitive impairment in patients with Parkinson's disease: diagnosis, biomarkers, and treatment. *Lancet Neurol* 11, 697-707.
220. Poletti, M., Emre, M., and Bonuccelli, U. (2011). Mild cognitive impairment and cognitive reserve in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 17, 579-586.
221. Benedict, R., Amato, M.P., Boringa, J., Brochet, B., Foley, F., Fredrikson, S., Hamalainen, P., Hartung, H., Krupp, L., Penner, I., et al. (2012). Brief International Cognitive Assessment for MS (BICAMS): international standards for validation. *BMC neurology* 12, 55.
222. Benedict, R.H., Fischer, J.S., Archibald, C.J., Arnett, P.A., Beatty, W.W., Bobholz, J., Chelune, G.J., Fisk, J.D., Langdon, D.W., Caruso, L., et al. (2002). Minimal neuropsychological assessment of MS patients: a consensus approach. *The Clinical neuropsychologist* 16, 381-397.
223. Patti, F. (2009). Cognitive impairment in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 15, 2-8.
224. Patti, F. (2012). Treatment of cognitive impairment in patients with multiple sclerosis. *Expert Opin Investig Drugs* 21, 1679-1699.
225. Rao, S.C.F.S.G.o.T.N.M.S.S. (1990). A manual for the brief repeatable battery of neuropsychological tests in multiple sclerosis In. (NY, USA National Multiple Sclerosis Society).
226. Strober, L., Englert, J., Munschauer, F., Weinstock-Guttman, B., Rao, S., and Benedict, R.H. (2009). Sensitivity of conventional memory tests in multiple sclerosis: comparing the Rao Brief Repeatable Neuropsychological Battery and the Minimal Assessment of Cognitive Function in MS. *Multiple sclerosis* 15, 1077-1084.
227. Langdon, D.W., Amato, M.P., Boringa, J., Brochet, B., Foley, F., Fredrikson, S., Hamalainen, P., Hartung, H.P., Krupp, L., Penner, I.K., et al. (2012). Recommendations for a Brief International Cognitive Assessment for Multiple Sclerosis (BICAMS). *Multiple sclerosis* 18, 891-898.
228. Lezak MD, H.D., Bigler ED, Tranel D. (2012). *Neuropsychological Assessment*
229. Benedict, R.H., Cookfair, D., Gavett, R., Gunther, M., Munschauer, F., Garg, N., and Weinstock-Guttman, B. (2006). Validity of the minimal assessment of cognitive function in multiple sclerosis (MACFIMS). *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS* 12, 549-558.
230. Benedict, R.H.B., Duquin, J.A., Jurgensen, S., Rudick, R.A., Feitcher, J., Munschauer, F.E., Panzara, M.A., and Weinstock-Guttman, B. (2008). Repeated assessment of neuropsychological deficits in multiple sclerosis using the Symbol Digit Modalities Test and the MS Neuropsychological Screening Questionnaire. *Multiple sclerosis* 14, 940-946.
231. Parmenter, B.A., Weinstock-Guttman, B., Garg, N., Munschauer, F., and Benedict, R.H. (2007). Screening for cognitive impairment in multiple sclerosis using the Symbol digit Modalities Test. *Multiple sclerosis* 13, 52-57.
232. Bruce, J.M., Bruce, A.S., and Arnett, P.A. (2007). Mild visual acuity disturbances are associated with performance on tests of complex visual attention in MS. *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS* 13, 544-548.
233. Drake, A.S., Weinstock-Guttman, B., Morrow, S.A., Hojnacki, D., Munschauer, F.E., and Benedict, R.H. (2010). Psychometrics and normative data for the Multiple Sclerosis Functional Composite: replacing the PASAT with the Symbol Digit Modalities Test. *Multiple sclerosis* 16, 228-237.
234. Brochet, B., Deloire, M.S., Bonnet, M., Salort-Campana, E., Ouallet, J.C., Petry, K.G., and Dousset, V. (2008). Should SDMT substitute for PASAT in MSFC? A 5-year longitudinal study. *Multiple sclerosis* 14, 1242-1249.
235. Berrigan, L.I., Fisk, J.D., Walker, L.A., Wojtowicz, M., Rees, L.M., Freedman, M.S., and Marrie, R.A. (2014). Reliability of regression-based normative data for the oral symbol digit modalities test: an evaluation of demographic influences, construct validity, and impairment classification rates in multiple sclerosis samples. *The Clinical neuropsychologist* 28, 281-299.

236. Lengenfelder, J., Bryant, D., Diamond, B.J., Kalmar, J.H., Moore, N.B., and DeLuca, J. (2006). Processing speed interacts with working memory efficiency in multiple sclerosis. *Archives of clinical neuropsychology : the official journal of the National Academy of Neuropsychologists* 21, 229-238.
237. Beatty, W.W., Paul, R.H., Blanco, C.R., Hames, K.A., and Wilbanks, S.L. (1995). Attention in multiple sclerosis: correlates of impairment on the WAIS-R Digit Span Test. *Appl Neuropsychol* 2, 139-144.
238. Paul, R.H., Beatty, W.W., Schneider, R., Blanco, C., and Hames, K. (1998). Impairments of attention in individuals with multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 4, 433-439.
239. Grafman J, R.S., Litvan. (1990). Disorders of memory. In: Rao SM (ed) *Neurobehavioral aspects of multiple sclerosis*.
240. Rao, S.M., Leo, G.J., and St Aubin-Faubert, P. (1989). On the nature of memory disturbance in multiple sclerosis. *J Clin Exp Neuropsychol* 11, 699-712.
241. DeLuca, J., Barbieri-Berger, S., and Johnson, S.K. (1994). The nature of memory impairments in multiple sclerosis: acquisition versus retrieval. *J Clin Exp Neuropsychol* 16, 183-189.
242. Thornton, A.E., Raz, N., and Tucke, K.A. (2002). Memory in multiple sclerosis: contextual encoding deficits. *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS* 8, 395-409.
243. Rao, S.M. (1986). Neuropsychology of multiple sclerosis: a critical review. *J Clin Exp Neuropsychol* 8, 503-542.
244. Caine, E.D., Bamford, K.A., Schiffer, R.B., Shoulson, I., and Levy, S. (1986). A controlled neuropsychological comparison of Huntington's disease and multiple sclerosis. *Arch Neurol* 43, 249-254.
245. DeLuca, J., Gaudino, E.A., Diamond, B.J., Christodoulou, C., and Engel, R.A. (1998). Acquisition and storage deficits in multiple sclerosis. *J Clin Exp Neuropsychol* 20, 376-390.
246. Brissart, H., Morele, E., Baumann, C., and Debouverie, M. (2012). Verbal episodic memory in 426 multiple sclerosis patients: impairment in encoding, retrieval or both? *Neurol Sci* 33, 1117-1123.
247. Tekok-Kilic, A., Benedict, R.H., Weinstock-Guttman, B., Dwyer, M.G., Carone, D., Srinivasaraghavan, B., Yella, V., Abdelrahman, N., Munschauer, F., Bakshi, R., et al. (2007). Independent contributions of cortical gray matter atrophy and ventricle enlargement for predicting neuropsychological impairment in multiple sclerosis. *NeuroImage* 36, 1294-1300.
248. Morgen, K., Sammer, G., Courtney, S.M., Wolters, T., Melchior, H., Blecker, C.R., Oschmann, P., Kaps, M., and Vaitl, D. (2006). Evidence for a direct association between cortical atrophy and cognitive impairment in relapsing-remitting MS. *NeuroImage* 30, 891-898.
249. Gamboa, O.L., Tagliazucchi, E., von Wegner, F., Jurcoane, A., Wahl, M., Laufs, H., and Ziemann, U. (2013). Working memory performance of early MS patients correlates inversely with modularity increases in resting state functional connectivity networks. *NeuroImage*.
250. Fink, F., Eling, P., Rischkau, E., Beyer, N., Tomandl, B., Klein, J., and Hildebrandt, H. (2010). The association between California Verbal Learning Test performance and fibre impairment in multiple sclerosis: evidence from diffusion tensor imaging. In *Multiple sclerosis*. pp 332-341.
251. Bahuleyan, B., and Singh, S. (2012). Olfactory memory impairment in neurodegenerative diseases. *J Clin Diagn Res* 6, 1437-1441.
252. Doty, R.L. (2012). Olfaction in Parkinson's disease and related disorders. *Neurobiol Dis* 46, 527-552.
253. Rahayel, S., Frasnelli, J., and Joubert, S. (2012). The effect of Alzheimer's disease and Parkinson's disease on olfaction: a meta-analysis. *Behav Brain Res* 231, 60-74.
254. Haehner, A., Hummel, T., and Reichmann, H. (2011). Olfactory loss in Parkinson's disease. *Parkinsons Dis* 2011, 450939.
255. Cavaco, S., Martins da Silva, A., Santos, E., Coutinho, E., Marinho, A., Moreira, I., Goncalves, A., Pinto, C., Teixeira-Pinto, A., and Vasconcelos, C. (2012). Are cognitive and olfactory

dysfunctions in neuropsychiatric lupus erythematosus dependent on anxiety or depression? *J Rheumatol* 39, 770-776.

256. Shoenfeld, N., Agmon-Levin, N., Flitman-Katzevman, I., Paran, D., Katz, B.S., Kivity, S., Langevitz, P., Zandman-Goddard, G., and Shoenfeld, Y. (2009). The sense of smell in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 60, 1484-1487.

257. Strous, R.D., and Shoenfeld, Y. (2006). To smell the immune system: olfaction, autoimmunity and brain involvement. *Autoimmun Rev* 6, 54-60.

258. Lutterotti, A., Vedovello, M., Reindl, M., Ehling, R., DiPauli, F., Kuenz, B., Gneiss, C., Deisenhammer, F., and Berger, T. (2011). Olfactory threshold is impaired in early, active multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 17, 964-969.

259. Zivadinov, R., Zorzon, M., Monti Bragadin, L., Pagliaro, G., and Cazzato, G. (1999). Olfactory loss in multiple sclerosis. *Journal of the neurological sciences* 168, 127-130.

260. Zorzon, M., Ukmar, M., Bragadin, L.M., Zanier, F., Antonello, R.M., Cazzato, G., and Zivadinov, R. (2000). Olfactory dysfunction and extent of white matter abnormalities in multiple sclerosis: a clinical and MR study. *Multiple sclerosis* 6, 386-390.

261. Doty, R.L., Li, C., Mannon, L.J., and Yousem, D.M. (1998). Olfactory dysfunction in multiple sclerosis. Relation to plaque load in inferior frontal and temporal lobes. *Annals of the New York Academy of Sciences* 855, 781-786.

262. Fleiner, F., Dahlslett, S.B., Schmidt, F., Harms, L., and Goektas, O. (2010). Olfactory and gustatory function in patients with multiple sclerosis. *American journal of rhinology & allergy* 24, e93-97.

263. Hawkes, C.H., Shephard, B.C., and Kobal, G. (1997). Assessment of olfaction in multiple sclerosis: evidence of dysfunction by olfactory evoked response and identification tests. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 63, 145-151.

264. Samkoff, L.M., Tuchman, A.J., Daras, M., and Koppel, B.S. (1996). A quantitative study of olfaction in multiple sclerosis. *Journal of Neurologic Rehabilitation* 10, 97-99.

265. Smith, M.M., and Arnett, P.A. (2010). Awareness of executive functioning deficits in multiple sclerosis: self versus informant ratings of impairment. *J Clin Exp Neuropsychol* 32, 780-787.

266. Beatty, W.W., Goodkin, D.E., Monson, N., and Beatty, P.A. (1989). Cognitive disturbances in patients with relapsing remitting multiple sclerosis. *Arch Neurol* 46, 1113-1119.

267. Foong, J., Rozewicz, L., Quaghebeur, G., Davie, C.A., Kartsounis, L.D., Thompson, A.J., Miller, D.H., and Ron, M.A. (1997). Executive function in multiple sclerosis. The role of frontal lobe pathology. *Brain : a journal of neurology* 120 (Pt 1), 15-26.

268. Goretti, B., Portaccio, E., Zipoli, V., Razzolini, L., and Amato, M.P. (2010). Coping strategies, cognitive impairment, psychological variables and their relationship with quality of life in multiple sclerosis. *Neurol Sci* 31, S227-230.

269. Parmenter, B.A., Zivadinov, R., Kerenyi, L., Gavett, R., Weinstock-Guttman, B., Dwyer, M.G., Garg, N., Munschauer, F., and Benedict, R.H. (2007). Validity of the Wisconsin Card Sorting and Delis-Kaplan Executive Function System (DKEFS) Sorting Tests in multiple sclerosis. *J Clin Exp Neuropsychol* 29, 215-223.

270. Basso, M.R., Shields, I.S., Lowery, N., Ghormley, C., Combs, D., Arnett, P.A., and Johnson, J. (2008). Self-reported executive dysfunction, neuropsychological impairment, and functional outcomes in multiple sclerosis. *J Clin Exp Neuropsychol* 30, 920-930.

271. Calabrese, P., and Penner, I.K. (2007). Cognitive dysfunctions in multiple sclerosis--a "multiple disconnection syndrome"? *J Neurol* 254 Suppl 2, II18-21.

272. Calabrese, P. (2006). Neuropsychology of multiple sclerosis--an overview. *J Neurol* 253 Suppl 1, I10-15.

273. Arnett, P.A., Higginson, C.I., and Randolph, J.J. (2001). Depression in multiple sclerosis: relationship to planning ability. *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS* 7, 665-674.

274. Foong, J., Rozewicz, L., Davie, C.A., Thompson, A.J., Miller, D.H., and Ron, M.A. (1999). Correlates of executive function in multiple sclerosis: the use of magnetic resonance spectroscopy as an index of focal pathology. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 11, 45-50.
275. Muhlert, N., Sethi, V., Schneider, T., Daga, P., Cipelotti, L., Haroon, H.A., Parker, G.J., Ourselin, S., Wheeler-Kingshott, C.A., Miller, D.H., et al. (2012). Diffusion MRI-based cortical complexity alterations associated with executive function in multiple sclerosis. *J Magn Reson Imaging*.
276. Pozzilli, C., Bastianello, S., Padovani, A., Passafiume, D., Millefiorini, E., Bozzao, L., and Fieschi, C. (1991). Anterior corpus callosum atrophy and verbal fluency in multiple sclerosis. *Cortex* 27, 441-445.
277. Pozzilli, C., Fieschi, C., Perani, D., Paulesu, E., Comi, G., Bastianello, S., Bernardi, S., Bettinardi, V., Bozzao, L., Canal, N., et al. (1992). Relationship between corpus callosum atrophy and cerebral metabolic asymmetries in multiple sclerosis. *Journal of the neurological sciences* 112, 51-57.
278. Achiron, A., Ziv, I., Djaldetti, R., Goldberg, H., Kuritzky, A., and Melamed, E. (1992). Aphasia in multiple sclerosis: clinical and radiologic correlations. *Neurology* 42, 2195-2197.
279. Arnett, P.A., Rao, S.M., Hussain, M., Swanson, S.J., and Hammeke, T.A. (1996). Conduction aphasia in multiple sclerosis: a case report with MRI findings. *Neurology* 47, 576-578.
280. Lacour, A., De Seze, J., Revenco, E., Lebrun, C., Masmoudi, K., Vidry, E., Rumbach, L., Chatel, M., Verier, A., and Vermersch, P. (2004). Acute aphasia in multiple sclerosis: A multicenter study of 22 patients. *Neurology* 62, 974-977.
281. Domingos J, S.E., Coutinho E, Pinho C, Gonçalves A, Cavaco S, Martins da Silva A. (2011). Afasia agudas em doentes com Esclerose Multipla. In. (Congresso de Neurologia 2011, Sinapse), pp 20-95.
282. Machado A, P.C., Martins da Silva A, Monteiro L. (2006). Dysphasia in Multiple Sclerosis: Two case reports. In. n.C.o.t.E.C.f.T.a.R.i.M. Sclerosis, ed. (Multiple Sclerosis), p S69.
283. Staff, N.P., Lucchinetti, C.F., and Keegan, B.M. (2009). Multiple sclerosis with predominant, severe cognitive impairment. *Arch Neurol* 66, 1139-1143.
284. Zarei, M., Chandran, S., Compston, A., and Hodges, J. (2003). Cognitive presentation of multiple sclerosis: evidence for a cortical variant. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 74, 872-877.
285. Zarei, M. (2006). Clinical characteristics of cortical multiple sclerosis. *Journal of the neurological sciences* 245, 53-58.
286. Ben-Zacharia, A.B. (2011). Therapeutics for multiple sclerosis symptoms. *Mt Sinai J Med* 78, 176-191.
287. Merson, R.M., and Rolnick, M.I. (1998). Speech-language pathology and dysphagia in multiple sclerosis. *Phys Med Rehabil Clin N Am* 9, 631-641.
288. Arnett, P.A., Smith, M.M., Barwick, F.H., Benedict, R.H., and Ahlstrom, B.P. (2008). Oralmotor slowing in multiple sclerosis: relationship to neuropsychological tasks requiring an oral response. *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS* 14, 454-462.
289. Smith, M.M., and Arnett, P.A. (2007). Dysarthria predicts poorer performance on cognitive tasks requiring a speeded oral response in an MS population. *J Clin Exp Neuropsychol* 29, 804-812.
290. Connick, P., Kolappan, M., Bak, T.H., and Chandran, S. (2012). Verbal fluency as a rapid screening test for cognitive impairment in progressive multiple sclerosis. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 83, 346-347.
291. Laatu, S., Revonsuo, A., Hamalainen, P., Ojanen, V., and Ruutiainen, J. (2001). Visual object recognition in multiple sclerosis. *Journal of the neurological sciences* 185, 77-88.
292. Rovaris, M., Comi, G., and Filippi, M. (2006). MRI markers of destructive pathology in multiple sclerosis-related cognitive dysfunction. *Journal of the neurological sciences* 245, 111-116.

293. Bakshi, R., Thompson, A.J., Rocca, M.A., Pelletier, D., Dousset, V., Barkhof, F., Inglese, M., Guttmann, C.R., Horsfield, M.A., and Filippi, M. (2008). MRI in multiple sclerosis: current status and future prospects. *Lancet Neurol* 7, 615-625.
294. Swirsky-Sacchetti, T., Mitchell, D.R., Seward, J., Gonzales, C., Lublin, F., Knobler, R., and Field, H.L. (1992). Neuropsychological and structural brain lesions in multiple sclerosis: a regional analysis. *Neurology* 42, 1291-1295.
295. Arnett, P.A., Rao, S.M., Bernardin, L., Grafman, J., Yetkin, F.Z., and Lobeck, L. (1994). Relationship between frontal lobe lesions and Wisconsin Card Sorting Test performance in patients with multiple sclerosis. *Neurology* 44, 420-425.
296. Papadopoulou, A., Muller-Lenke, N., Naegelin, Y., Kalt, G., Bendfeldt, K., Kuster, P., Stoecklin, M., Gass, A., Sprenger, T., Wilhelm Radue, E., et al. (2013). Contribution of cortical and white matter lesions to cognitive impairment in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis*.
297. Amato, M.P., Portaccio, E., Goretti, B., Zipoli, V., Battaglini, M., Bartolozzi, M.L., Stromillo, M.L., Guidi, L., Siracusa, G., Sorbi, S., et al. (2007). Association of neocortical volume changes with cognitive deterioration in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Arch Neurol* 64, 1157-1161.
298. Minagar, A., Barnett, M.H., Benedict, R.H., Pelletier, D., Pirko, I., Sahraian, M.A., Frohman, E., and Zivadinov, R. (2013). The thalamus and multiple sclerosis: Modern views on pathologic, imaging, and clinical aspects. *Neurology* 80, 210-219.
299. Anderson, V.M., Fisniku, L.K., Khaleeli, Z., Summers, M.M., Penny, S.A., Altmann, D.R., Thompson, A.J., Ron, M.A., and Miller, D.H. (2010). Hippocampal atrophy in relapsing-remitting and primary progressive MS: a comparative study. *Multiple sclerosis* 16, 1083-1090.
300. Yu, H.J., Christodoulou, C., Bhise, V., Greenblatt, D., Patel, Y., Serafin, D., Maletic-Savatic, M., Krupp, L.B., and Wagshul, M.E. (2012). Multiple white matter tract abnormalities underlie cognitive impairment in RRMS. *NeuroImage* 59, 3713-3722.
301. Audoin, B., Au Duong, M.V., Ranjeva, J.P., Ibarrola, D., Malikova, I., Confort-Gouny, S., Soulier, E., Viout, P., Ali-Cherif, A., Pelletier, J., et al. (2005). Magnetic resonance study of the influence of tissue damage and cortical reorganization on PASAT performance at the earliest stage of multiple sclerosis. *Hum Brain Mapp* 24, 216-228.
302. Staffen, W., Mair, A., Zauner, H., Unterrainer, J., Niederhofer, H., Kutzelnigg, A., Ritter, S., Golaszewski, S., Iglseder, B., and Ladurner, G. (2002). Cognitive function and fMRI in patients with multiple sclerosis: evidence for compensatory cortical activation during an attention task. *Brain : a journal of neurology* 125, 1275-1282.
303. Cader, S., Palace, J., and Matthews, P.M. (2009). Cholinergic agonism alters cognitive processing and enhances brain functional connectivity in patients with multiple sclerosis. *J Psychopharmacol* 23, 686-696.
304. Huolman, S., Hamalainen, P., Vorobyev, V., Ruutinen, J., Parkkola, R., Laine, T., and Hamalainen, H. (2011). The effects of rivastigmine on processing speed and brain activation in patients with multiple sclerosis and subjective cognitive fatigue. *Multiple sclerosis* 17, 1351-1361.
305. Parry, A.M., Scott, R.B., Palace, J., Smith, S., and Matthews, P.M. (2003). Potentially adaptive functional changes in cognitive processing for patients with multiple sclerosis and their acute modulation by rivastigmine. *Brain : a journal of neurology* 126, 2750-2760.
306. Rossi, F., Giorgio, A., Battaglini, M., Stromillo, M.L., Portaccio, E., Goretti, B., Federico, A., Hakiki, B., Amato, M.P., and De Stefano, N. (2012). Relevance of brain lesion location to cognition in relapsing multiple sclerosis. *PLoS one* 7, e44826.
307. Filley, C.M. (1998). The behavioral neurology of cerebral white matter. *Neurology* 50, 1535-1540.
308. Schoonheim, M.M., and Filippi, M. (2012). Functional plasticity in MS: friend or foe? *Neurology* 79, 1418-1419.
309. Shi, J., Zhao, C.B., Vollmer, T.L., Tyry, T.M., and Kuniyoshi, S.M. (2008). APOE epsilon 4 allele is associated with cognitive impairment in patients with multiple sclerosis. *Neurology* 70, 185-190.

310. Koutsis, G., Panas, M., Giogkaraki, E., Potagas, C., Karadima, G., Sfagos, C., and Vassilopoulos, D. (2007). APOE epsilon4 is associated with impaired verbal learning in patients with MS. *Neurology* 68, 546-549.
311. Savettieri, G., Messina, D., Andreoli, V., Bonavita, S., Caltagirone, C., Cittadella, R., Farina, D., Fazio, M.C., Girlanda, P., Le Pira, F., et al. (2004). Gender-related effect of clinical and genetic variables on the cognitive impairment in multiple sclerosis. *J Neurol* 251, 1208-1214.
312. Portaccio, E., Goretti, B., Zipoli, V., Nacmias, B., Stromillo, M.L., Bartolozzi, M.L., Siracusa, G., Guidi, L., Federico, A., Sorbi, S., et al. (2009). APOE-epsilon4 is not associated with cognitive impairment in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 15, 1489-1494.
313. Oliveri, R.L., Cittadella, R., Sibilia, G., Manna, I., Valentino, P., Gambardella, A., Aguglia, U., Zappia, M., Romeo, N., Andreoli, V., et al. (1999). APOE and risk of cognitive impairment in multiple sclerosis. *Acta Neurol Scand* 100, 290-295.
314. Ghaffar, O., Reis, M., Pennell, N., O'Connor, P., and Feinstein, A. (2010). APOE epsilon4 and the cognitive genetics of multiple sclerosis. *Neurology* 74, 1611-1618.
315. Shi, J., Tu, J.L., Gale, S.D., Baxter, L., Vollmer, T.L., Campagnolo, D.I., Tyry, T.M., Zhuang, Y., and Kuniyoshi, S.M. (2011). APOE epsilon4 is associated with exacerbation of cognitive decline in patients with multiple sclerosis. *Cognitive and behavioral neurology : official journal of the Society for Behavioral and Cognitive Neurology* 24, 128-133.
316. Sadovnick, A.D., and Jacobs, D.H. (2008). MS and cognition and APOE: the ongoing conundrum about biomarkers. *Neurology* 70, 164-165.
317. Ghaffar, O., and Feinstein, A. (2010). APOE epsilon4 and cognitive dysfunction in multiple sclerosis: a review. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 22, 155-165.
318. Julian, L.J., Vella, L., Frankel, D., Minden, S.L., Oksenberg, J.R., and Mohr, D.C. (2009). ApoE alleles, depression and positive affect in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 15, 311-315.
319. Arnett, P.A., Barwick, F.H., and Beeney, J.E. (2008). Depression in multiple sclerosis: review and theoretical proposal. *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS* 14, 691-724.
320. Beatty, W.W., and Aupperle, R.L. (2002). Sex differences in cognitive impairment in multiple sclerosis. *The Clinical neuropsychologist* 16, 472-480.
321. Schoonheim, M.M., Hulst, H.E., Landi, D., Ciccarelli, O., Roosendaal, S.D., Sanz-Arigita, E.J., Vrenken, H., Polman, C.H., Stam, C.J., Barkhof, F., et al. (2012). Gender-related differences in functional connectivity in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 18, 164-173.
322. Schoonheim, M.M., Popescu, V., Rueda Lopes, F.C., Wiebenga, O.T., Vrenken, H., Douw, L., Polman, C.H., Geurts, J.J., and Barkhof, F. (2012). Subcortical atrophy and cognition: sex effects in multiple sclerosis. *Neurology* 79, 1754-1761.
323. Pinter, D., Sumowski, J., Deluca, J., Fazekas, F., Pichler, A., Khalil, M., Langkammer, C., Fuchs, S., and Enzinger, C. (2014). Higher education moderates the effect of t2 lesion load and third ventricle width on cognition in multiple sclerosis. *PloS one* 9, e87567.
324. Bonnet, M.C., Deloire, M.S., Salort, E., Dousset, V., Petry, K.G., Brochet, B., and Group, A.S. (2006). Evidence of cognitive compensation associated with educational level in early relapsing-remitting multiple sclerosis. *Journal of the neurological sciences* 251, 23-28.
325. Gonzalez-Rosa, J.J., Vazquez-Marrufo, M., Vaquero, E., Duque, P., Borges, M., Gamero, M.A., Gomez, C.M., and Izquierdo, G. (2006). Differential cognitive impairment for diverse forms of multiple sclerosis. *BMC Neurosci* 7, 39.
326. Zaaraoui, W., Reuter, F., Rico, A., Faivre, A., Crespy, L., Malikova, I., Soulier, E., Viout, P., Le Fur, Y., Confort-Gouny, S., et al. (2011). Occurrence of neuronal dysfunction during the first 5 years of multiple sclerosis is associated with cognitive deterioration. *J Neurol* 258, 811-819.
327. Faiss, J.H. (2007). Cognitive dysfunction in different stages in multiple sclerosis--presentation of 3 cases. *J Neurol* 254 Suppl 2, II77-79.

328. Huijbregts, S.C., Kalkers, N.F., de Sonnevile, L.M., de Groot, V., and Polman, C.H. (2006). Cognitive impairment and decline in different MS subtypes. *Journal of the neurological sciences* 245, 187-194.
329. Huijbregts, S.C., Kalkers, N.F., de Sonnevile, L.M., de Groot, V., Reuling, I.E., and Polman, C.H. (2004). Differences in cognitive impairment of relapsing remitting, secondary, and primary progressive MS. *Neurology* 63, 335-339.
330. Foong, J., Rozewicz, L., Chong, W.K., Thompson, A.J., Miller, D.H., and Ron, M.A. (2000). A comparison of neuropsychological deficits in primary and secondary progressive multiple sclerosis. *J Neurol* 247, 97-101.
331. Rao, S.M., Hammeke, T.A., McQuillen, M.P., Khatri, B.O., and Lloyd, D. (1984). Memory disturbance in chronic progressive multiple sclerosis. *Arch Neurol* 41, 625-631.
332. Comi, G., Filippi, M., Martinelli, V., Campi, A., Rodegher, M., Alberoni, M., Sirabian, G., and Canal, N. (1995). Brain MRI correlates of cognitive impairment in primary and secondary progressive multiple sclerosis. *Journal of the neurological sciences* 132, 222-227.
333. Ruet, A., Deloire, M., Charre-Morin, J., Hamel, D., and Brochet, B. (2013). Cognitive impairment differs between primary progressive and relapsing-remitting MS. *Neurology* 80, 1501-1508.
334. Gaudino, E.A., Chiaravalloti, N.D., DeLuca, J., and Diamond, B.J. (2001). A comparison of memory performance in relapsing-remitting, primary progressive and secondary progressive, multiple sclerosis. *Neuropsychiatry Neuropsychol Behav Neurol* 14, 32-44.
335. Ukkonen, M., Vahvelainen, T., Hamalainen, P., Dastidar, P., and Elovaara, I. (2009). Cognitive dysfunction in primary progressive multiple sclerosis: a neuropsychological and MRI study. *Multiple sclerosis* 15, 1055-1061.
336. Henry, J.D., and Beatty, W.W. (2006). Verbal fluency deficits in multiple sclerosis. *Neuropsychologia* 44, 1166-1174.
337. Beatty, W.W., Goodkin, D.E., Hertsgaard, D., and Monson, N. (1990). Clinical and demographic predictors of cognitive performance in multiple sclerosis. Do diagnostic type, disease duration, and disability matter? *Arch Neurol* 47, 305-308.
338. Minden, S.L., Moes, E.J., Orav, J., Kaplan, E., and Reich, P. (1990). Memory impairment in multiple sclerosis. *J Clin Exp Neuropsychol* 12, 566-586.
339. Maurelli, M., Marchioni, E., Cerretano, R., Bosone, D., Bergamaschi, R., Citterio, A., Martelli, A., Sibilla, L., and Savoldi, F. (1992). Neuropsychological assessment in MS: clinical, neurophysiological and neuroradiological relationships. *Acta Neurol Scand* 86, 124-128.
340. Patti, F., Di Stefano, M., De Pascalis, D., Ciancio, M.R., De Bernardis, E., Nicoletti, F., and Reggio, A. (1995). May there exist specific MRI findings predictive of dementia in multiple sclerosis patients? *Funct Neurol* 10, 83-90.
341. Lyon-Caen, O., Jouvent, R., Hauser, S., Chaunu, M.P., Benoit, N., Widlocher, D., and Lhermitte, F. (1986). Cognitive function in recent-onset demyelinating diseases. *Arch Neurol* 43, 1138-1141.
342. Fontaine, B., Seilhean, D., Tourbah, A., Daumas-Duport, C., Duyckaerts, C., Benoit, N., Devaux, B., Hauw, J.J., Rancurel, G., and Lyon-Caen, O. (1994). Dementia in two histologically confirmed cases of multiple sclerosis: one case with isolated dementia and one case associated with psychiatric symptoms. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 57, 353-359.
343. Stoquart-Elsankari, S., Perin, B., Lehmann, P., Gondry-Jouet, C., and Godefroy, O. (2010). Cognitive forms of multiple sclerosis: report of a dementia case. *Clin Neurol Neurosurg* 112, 258-260.
344. Amato, M.P., Portaccio, E., Goretti, B., Zipoli, V., Iudice, A., Della Pina, D., Malentacchi, G., Sabatini, S., Annunziata, P., Falcini, M., et al. (2010). Relevance of cognitive deterioration in early relapsing-remitting MS: a 3-year follow-up study. *Multiple sclerosis* 16, 1474-1482.
345. Bergendal, G., Fredrikson, S., and Almkvist, O. (2007). Selective decline in information processing in subgroups of multiple sclerosis: an 8-year longitudinal study. *Eur Neurol* 57, 193-202.

346. Sperling, R.A., Guttmann, C.R., Hohol, M.J., Warfield, S.K., Jakab, M., Parente, M., Diamond, E.L., Daffner, K.R., Olek, M.J., Orav, E.J., et al. (2001). Regional magnetic resonance imaging lesion burden and cognitive function in multiple sclerosis: a longitudinal study. *Arch Neurol* 58, 115-121.
347. Ytterberg, C., Johansson, S., Andersson, M., Widen Holmqvist, L., and von Koch, L. (2008). Variations in functioning and disability in multiple sclerosis. A two-year prospective study. *J Neurol* 255, 967-973.
348. Lynch, S.G., Parmenter, B.A., and Denney, D.R. (2005). The association between cognitive impairment and physical disability in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 11, 469-476.
349. Siepman, T.A., Janssens, A.C., de Koning, I., Polman, C.H., Boringa, J.B., and Hintzen, R.Q. (2008). The role of disability and depression in cognitive functioning within 2 years after multiple sclerosis diagnosis. *J Neurol* 255, 910-916.
350. Denney, D.R., Sworowski, L.A., and Lynch, S.G. (2005). Cognitive impairment in three subtypes of multiple sclerosis. *Archives of clinical neuropsychology : the official journal of the National Academy of Neuropsychologists* 20, 967-981.
351. Chwastiak, L.A., and Ehde, D.M. (2007). Psychiatric issues in multiple sclerosis. *Psychiatr Clin North Am* 30, 803-817.
352. Janssens, A.C., van Doorn, P.A., de Boer, J.B., Kalkers, N.F., van der Meche, F.G., Passchier, J., and Hintzen, R.Q. (2003). Anxiety and depression influence the relation between disability status and quality of life in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 9, 397-403.
353. Kenealy, P.M., Beaumont, G.J., Lintern, T., and Murrell, R. (2000). Autobiographical memory, depression and quality of life in multiple sclerosis. *J Clin Exp Neuropsychol* 22, 125-131.
354. Feinstein, A. (2002). An examination of suicidal intent in patients with multiple sclerosis. *Neurology* 59, 674-678.
355. Goldman Consensus, G. (2005). The Goldman Consensus statement on depression in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 11, 328-337.
356. Wallin, M.T., Wilken, J.A., Turner, A.P., Williams, R.M., and Kane, R. (2006). Depression and multiple sclerosis: Review of a lethal combination. *J Rehabil Res Dev* 43, 45-62.
357. Dahl, O.P., Stordal, E., Lydersen, S., and Midgard, R. (2009). Anxiety and depression in multiple sclerosis. A comparative population-based study in Nord-Trøndelag County, Norway. *Multiple sclerosis* 15, 1495-1501.
358. Gay, M.C., Vrignaud, P., Garitte, C., and Meunier, C. (2010). Predictors of depression in multiple sclerosis patients. *Acta Neurol Scand* 121, 161-170.
359. Beeney, J., and Arnett, P.A. (2008). Stress and memory bias interact to predict depression in multiple sclerosis. *Neuropsychology* 22, 118-126.
360. Bruce, J.M., Bruce, A.S., Hancock, L., and Lynch, S. (2010). Self-reported memory problems in multiple sclerosis: influence of psychiatric status and normative dissociative experiences. *Archives of clinical neuropsychology : the official journal of the National Academy of Neuropsychologists* 25, 39-48.
361. Berg, D., Supprian, T., Thomae, J., Warmuth-Metz, M., Horowski, A., Zeiler, B., Magnus, T., Rieckmann, P., and Becker, G. (2000). Lesion pattern in patients with multiple sclerosis and depression. *Multiple sclerosis* 6, 156-162.
362. Feinstein, A., Roy, P., Lobaugh, N., Feinstein, K., O'Connor, P., and Black, S. (2004). Structural brain abnormalities in multiple sclerosis patients with major depression. *Neurology* 62, 586-590.
363. Honer, W.G., Hurwitz, T., Li, D.K., Palmer, M., and Paty, D.W. (1987). Temporal lobe involvement in multiple sclerosis patients with psychiatric disorders. *Arch Neurol* 44, 187-190.
364. Pujol, J., Bello, J., Deus, J., Marti-Vilalta, J.L., and Capdevila, A. (1997). Lesions in the left arcuate fasciculus region and depressive symptoms in multiple sclerosis. *Neurology* 49, 1105-1110.

365. Zorzon, M., de Masi, R., Nasuelli, D., Ukmar, M., Mucelli, R.P., Cazzato, G., Bratina, A., and Zivadinov, R. (2001). Depression and anxiety in multiple sclerosis. A clinical and MRI study in 95 subjects. *J Neurol* 248, 416-421.
366. Fassbender, K., Schmidt, R., Mossner, R., Kischka, U., Kuhnen, J., Schwartz, A., and Hennerici, M. (1998). Mood disorders and dysfunction of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in multiple sclerosis: association with cerebral inflammation. *Arch Neurol* 55, 66-72.
367. Foley, F.W., Miller, A.H., Traugott, U., LaRocca, N.G., Scheinberg, L.C., Bedell, J.R., and Lennox, S.S. (1988). Psychoimmunological dysregulation in multiple sclerosis. *Psychosomatics* 29, 398-403.
368. Foley, F.W., Traugott, U., LaRocca, N.G., Smith, C.R., Perlman, K.R., Caruso, L.S., and Scheinberg, L.C. (1992). A prospective study of depression and immune dysregulation in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 49, 238-244.
369. Kluger, B.M., Krupp, L.B., and Enoka, R.M. (2013). Fatigue and fatigability in neurologic illnesses: proposal for a unified taxonomy. *Neurology* 80, 409-416.
370. Amato, M.P., and Portaccio, E. (2012). Management options in multiple sclerosis-associated fatigue. *Expert Opin Pharmacother* 13, 207-216.
371. Kos, D., Kerckhofs, E., Nagels, G., D'Hooghe M, B., and Ilsbroukx, S. (2008). Origin of fatigue in multiple sclerosis: review of the literature. *Neurorehabil Neural Repair* 22, 91-100.
372. Andreasen, A.K., Spliid, P.E., Andersen, H., and Jakobsen, J. (2010). Fatigue and processing speed are related in multiple sclerosis. *European journal of neurology : the official journal of the European Federation of Neurological Societies* 17, 212-218.
373. Heesen, C., Schulz, K.H., Fiehler, J., Von der Mark, U., Otte, C., Jung, R., Poettgen, J., Krieger, T., and Gold, S.M. (2010). Correlates of cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Brain Behav Immun* 24, 1148-1155.
374. Brass, S.D., Benedict, R.H., Weinstock-Guttman, B., Munschauer, F., and Bakshi, R. (2006). Cognitive impairment is associated with subcortical magnetic resonance imaging grey matter T2 hypointensity in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 12, 437-444.
375. Pirko, I., Lucchinetti, C.F., Sriram, S., and Bakshi, R. (2007). Gray matter involvement in multiple sclerosis. *Neurology* 68, 634-642.
376. Sicotte, N.L., Kern, K.C., Giesser, B.S., Arshanapalli, A., Schultz, A., Montag, M., Wang, H., and Bookheimer, S.Y. (2008). Regional hippocampal atrophy in multiple sclerosis. *Brain : a journal of neurology* 131, 1134-1141.
377. Tur, C., Penny, S., Khaleeli, Z., Altmann, D.R., Cipolotti, L., Ron, M., Thompson, A.J., and Ciccarelli, O. (2011). Grey matter damage and overall cognitive impairment in primary progressive multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 17, 1324-1332.
378. Portaccio, E., Amato, M.P., Bartolozzi, M.L., Zipoli, V., Mortilla, M., Guidi, L., Siracusa, G., Sorbi, S., Federico, A., and De Stefano, N. (2006). Neocortical volume decrease in relapsing-remitting multiple sclerosis with mild cognitive impairment. *Journal of the neurological sciences* 245, 195-199.
379. Benedict, R.H., Bruce, J.M., Dwyer, M.G., Abdelrahman, N., Hussein, S., Weinstock-Guttman, B., Garg, N., Munschauer, F., and Zivadinov, R. (2006). Neocortical atrophy, third ventricular width, and cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 63, 1301-1306.
380. Bermel, R.A., Bakshi, R., Tjoa, C., Puli, S.R., and Jacobs, L. (2002). Bicaudate ratio as a magnetic resonance imaging marker of brain atrophy in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 59, 275-280.
381. Benedict, R.H., Bakshi, R., Simon, J.H., Priore, R., Miller, C., and Munschauer, F. (2002). Frontal cortex atrophy predicts cognitive impairment in multiple sclerosis. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* 14, 44-51.
382. Benedict, R.H., Weinstock-Guttman, B., Fishman, I., Sharma, J., Tjoa, C.W., and Bakshi, R. (2004). Prediction of neuropsychological impairment in multiple sclerosis: comparison of conventional magnetic resonance imaging measures of atrophy and lesion burden. *Arch Neurol* 61, 226-230.

383. Zivadinov, R., De Masi, R., Nasuelli, D., Bragadin, L.M., Ukmar, M., Pozzi-Mucelli, R.S., Grop, A., Cazzato, G., and Zorzon, M. (2001). MRI techniques and cognitive impairment in the early phase of relapsing-remitting multiple sclerosis. *Neuroradiology* 43, 272-278.
384. Tiemann, L., Penner, I.K., Haupts, M., Schlegel, U., and Calabrese, P. (2009). Cognitive decline in multiple sclerosis: impact of topographic lesion distribution on differential cognitive deficit patterns. *Multiple sclerosis* 15, 1164-1174.
385. Mariani, C., Farina, E., Cappa, S.F., Anzola, G.P., Faglia, L., Bevilacqua, L., Capra, R., Mattioli, F., and Vignolo, L.A. (1991). Neuropsychological assessment in multiple sclerosis: a follow-up study with magnetic resonance imaging. *J Neurol* 238, 395-400.
386. Huber, S.J., Paulson, G.W., Shuttleworth, E.C., Chakeres, D., Clapp, L.E., Pakalnis, A., Weiss, K., and Rammohan, K. (1987). Magnetic resonance imaging correlates of dementia in multiple sclerosis. *Arch Neurol* 44, 732-736.
387. Arnett, P.A. (2010). Does cognitive reserve apply to multiple sclerosis? *Neurology* 74, 1934-1935.
388. Sumowski, J.F., Chiaravalloti, N., and DeLuca, J. (2009). Cognitive reserve protects against cognitive dysfunction in multiple sclerosis. *J Clin Exp Neuropsychol* 31, 913-926.
389. Sumowski, J.F., Chiaravalloti, N., Wylie, G., and Deluca, J. (2009). Cognitive reserve moderates the negative effect of brain atrophy on cognitive efficiency in multiple sclerosis. *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS* 15, 606-612.
390. Sumowski, J.F., and Leavitt, V.M. (2013). Cognitive reserve in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 19, 1122-1127.
391. Sumowski, J.F., Rocca, M.A., Leavitt, V.M., Riccitelli, G., Comi, G., DeLuca, J., and Filippi, M. (2013). Brain reserve and cognitive reserve in multiple sclerosis: what you've got and how you use it. *Neurology* 80, 2186-2193.
392. Sumowski, J.F., Wylie, G.R., Chiaravalloti, N., and DeLuca, J. (2010). Intellectual enrichment lessens the effect of brain atrophy on learning and memory in multiple sclerosis. *Neurology* 74, 1942-1945.
393. Sumowski, J.F., Wylie, G.R., Deluca, J., and Chiaravalloti, N. (2010). Intellectual enrichment is linked to cerebral efficiency in multiple sclerosis: functional magnetic resonance imaging evidence for cognitive reserve. *Brain : a journal of neurology* 133, 362-374.
394. Sumowski, J.F., Wylie, G.R., Gonnella, A., Chiaravalloti, N., and Deluca, J. (2010). Premorbid cognitive leisure independently contributes to cognitive reserve in multiple sclerosis. *Neurology* 75, 1428-1431.
395. Stern, Y. (2002). What is cognitive reserve? Theory and research application of the reserve concept. *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS* 8, 448-460.
396. Stern, Y. (2012). Cognitive reserve in ageing and Alzheimer's disease. *Lancet Neurol* 11, 1006-1012.
397. Katzman, R., Aronson, M., Fuld, P., Kawas, C., Brown, T., Morgenstern, H., Frishman, W., Gidez, L., Eder, H., and Ooi, W.L. (1989). Development of dementing illnesses in an 80-year-old volunteer cohort. *Annals of neurology* 25, 317-324.
398. Staff, R.T., Murray, A.D., Deary, I.J., and Whalley, L.J. (2004). What provides cerebral reserve? *Brain : a journal of neurology* 127, 1191-1199.
399. Rentz, D.M., Locascio, J.J., Becker, J.A., Moran, E.K., Eng, E., Buckner, R.L., Sperling, R.A., and Johnson, K.A. (2010). Cognition, reserve, and amyloid deposition in normal aging. *Annals of neurology* 67, 353-364.
400. Martins, I.P., Maruta, C., Silva, C., Rodrigues, P., Chester, C., Gino, S., Freitas, V., Freitas, S., and Oliveira, A.G. (2012). The effect of education on age-related changes in three cognitive domains: a cross-sectional study in primary care. *Applied neuropsychology Adult* 19, 287-298.
401. Paulo, A.C., Sampaio, A., Santos, N.C., Costa, P.S., Cunha, P., Zihl, J., Cerqueira, J., Palha, J.A., and Sousa, N. (2011). Patterns of cognitive performance in healthy ageing in Northern Portugal: a cross-sectional analysis. *PloS one* 6, e24553.

402. Murray, A.D., Staff, R.T., McNeil, C.J., Salarirad, S., Ahearn, T.S., Mustafa, N., and Whalley, L.J. (2011). The balance between cognitive reserve and brain imaging biomarkers of cerebrovascular and Alzheimer's diseases. *Brain : a journal of neurology* 134, 3687-3696.
403. Zieren, N., Duering, M., Peters, N., Reyes, S., Jouvent, E., Herve, D., Gschwendtner, A., Mewald, Y., Opherk, C., Chabriat, H., et al. (2013). Education modifies the relation of vascular pathology to cognitive function: cognitive reserve in cerebral autosomal dominant arteriopathy with subcortical infarcts and leukoencephalopathy. *Neurobiol Aging* 34, 400-407.
404. Borroni, B., Premi, E., Agosti, C., Alberici, A., Garibotto, V., Bellelli, G., Paghera, B., Lucchini, S., Giubbini, R., Perani, D., et al. (2009). Revisiting brain reserve hypothesis in frontotemporal dementia: evidence from a brain perfusion study. *Dement Geriatr Cogn Disord* 28, 130-135.
405. Armstrong, M.J., Naglie, G., Duff-Canning, S., Meaney, C., Gill, D., Eslinger, P.J., Zadikoff, C., Mapstone, M., Chou, K.L., Persad, C., et al. (2012). Roles of Education and IQ in Cognitive Reserve in Parkinson's Disease-Mild Cognitive Impairment. *Dement Geriatr Cogn Dis Extra* 2, 343-352.
406. Koerts, J., Tucha, L., Lange, K.W., and Tucha, O. (2012). The influence of cognitive reserve on cognition in Parkinson's disease. *J Neural Transm*.
407. Morgan, E.E., Woods, S.P., Smith, C., Weber, E., Scott, J.C., Grant, I., and Group, H.I.V.N.R.P. (2012). Lower cognitive reserve among individuals with syndromic HIV-associated neurocognitive disorders (HAND). *AIDS Behav* 16, 2279-2285.
408. Benedict, R.H., Morrow, S.A., Weinstock Guttman, B., Cookfair, D., and Schretlen, D.J. (2010). Cognitive reserve moderates decline in information processing speed in multiple sclerosis patients. *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS* 16, 829-835.
409. Jones, R.N., Fong, T.G., Metzger, E., Tulebaev, S., Yang, F.M., Alsop, D.C., Marcantonio, E.R., Cupples, L.A., Gottlieb, G., and Inouye, S.K. (2010). Aging, brain disease, and reserve: implications for delirium. *Am J Geriatr Psychiatry* 18, 117-127.
410. Amato, M.P., Razzolini, L., Goretti, B., Stromillo, M.L., Rossi, F., Giorgio, A., Hakiki, B., Giannini, M., Pasto, L., Portaccio, E., et al. (2013). Cognitive reserve and cortical atrophy in multiple sclerosis: a longitudinal study. *Neurology* 80, 1728-1733.
411. Ghaffar, O., Fiati, M., and Feinstein, A. (2012). Occupational attainment as a marker of cognitive reserve in multiple sclerosis. *PLoS one* 7, e47206.
412. Meng, X., and D'Arcy, C. (2012). Education and dementia in the context of the cognitive reserve hypothesis: a systematic review with meta-analyses and qualitative analyses. *PLoS one* 7, e38268.
413. Montalban, X., and Rio, J. (2006). Interferons and cognition. *Journal of the neurological sciences* 245, 137-140.
414. Amato, M.P., Goretti, B., Ghezzi, A., Lori, S., Zipoli, V., Moiola, L., Falautano, M., De Caro, M.F., Viterbo, R., Patti, F., et al. (2010). Cognitive and psychosocial features in childhood and juvenile MS: two-year follow-up. *Neurology* 75, 1134-1140.
415. Deloire, M., Ruet, A., Hamel, D., Bonnet, M., and Brochet, B. (2010). Early cognitive impairment in multiple sclerosis predicts disability outcome several years later. *Multiple sclerosis* 16, 581-587.
416. Denney, D.R., Lynch, S.G., and Parmenter, B.A. (2008). A 3-year longitudinal study of cognitive impairment in patients with primary progressive multiple sclerosis: speed matters. *Journal of the neurological sciences* 267, 129-136.
417. Glanz, B.I., Healy, B.C., Hviid, L.E., Chitnis, T., and Weiner, H.L. (2012). Cognitive deterioration in patients with early multiple sclerosis: a 5-year study. *Journal of neurology, neurosurgery, and psychiatry* 83, 38-43.
418. Penny, S., Khaleeli, Z., Cipolotti, L., Thompson, A., and Ron, M. (2010). Early imaging predicts later cognitive impairment in primary progressive multiple sclerosis. *Neurology* 74, 545-552.

419. Portaccio, E., Stromillo, M.L., Goretti, B., Zipoli, V., Siracusa, G., Battaglini, M., Giorgio, A., Bartolozzi, M.L., Guidi, L., Sorbi, S., et al. (2009). Neuropsychological and MRI measures predict short-term evolution in benign multiple sclerosis. *Neurology* 73, 498-503.
420. Patti, F., Morra, V.B., Amato, M.P., Trojano, M., Bastianello, S., Tola, M.R., Cottone, S., Plant, A., Picconi, O., and Group, C.S. (2013). Subcutaneous interferon beta-1a may protect against cognitive impairment in patients with relapsing-remitting multiple sclerosis: 5-year follow-up of the COGIMUS study. *PloS one* 8, e74111.
421. Schwid, S.R., Goodman, A.D., Weinstein, A., McDermott, M.P., Johnson, K.P., and Copaxone Study, G. (2007). Cognitive function in relapsing multiple sclerosis: minimal changes in a 10-year clinical trial. *Journal of the neurological sciences* 255, 57-63.
422. Amato, M.P., Bartolozzi, M.L., Zipoli, V., Portaccio, E., Mortilla, M., Guidi, L., Siracusa, G., Sorbi, S., Federico, A., and De Stefano, N. (2004). Neocortical volume decrease in relapsing-remitting MS patients with mild cognitive impairment. *Neurology* 63, 89-93.
423. O'Brien, A.R., Chiaravalloti, N., Goverover, Y., and Deluca, J. (2008). Evidenced-based cognitive rehabilitation for persons with multiple sclerosis: a review of the literature. *Arch Phys Med Rehabil* 89, 761-769.
424. Rosti-Otajarvi, E.M., and Hamalainen, P.I. (2011). Neuropsychological rehabilitation for multiple sclerosis. *Cochrane Database Syst Rev*, CD009131.
425. Krupp, L.B., Christodoulou, C., Melville, P., Scherl, W.F., MacAllister, W.S., and Elkins, L.E. (2004). Donepezil improved memory in multiple sclerosis in a randomized clinical trial. *Neurology* 63, 1579-1585.
426. Krupp, L.B., Christodoulou, C., Melville, P., Scherl, W.F., Pai, L.Y., Muenz, L.R., He, D., Benedict, R.H., Goodman, A., Rizvi, S., et al. (2011). Multicenter randomized clinical trial of donepezil for memory impairment in multiple sclerosis. *Neurology* 76, 1500-1507.
427. Shaygannejad, V., Janghorbani, M., Ashtari, F., Zanjani, H.A., and Zakizade, N. (2008). Effects of rivastigmine on memory and cognition in multiple sclerosis. *Can J Neurol Sci* 35, 476-481.
428. Patti, F., Leone, C., and D'Amico, E. (2010). Treatment options of cognitive impairment in multiple sclerosis. *Neurol Sci* 31, S265-269.
429. Pierson, S.H., and Griffith, N. (2006). Treatment of cognitive impairment in multiple sclerosis. *Behav Neurol* 17, 53-67.
430. Damasio, J., Ramos, C., Valdemar, L., da Silva, A.M., and Magalhaes, M. (2011). A coincidental case of young-onset Parkinson disease and multiple sclerosis. *Neurologist* 17, 286-288.
431. da Silva, A.A., dos Santos Cavaco, S.M., Taipa, R.J., Pinto, P.R., and Pires, M.J. (2011). Medulloblastoma and gliomatosis cerebri: rare brain tumors in multiple sclerosis patients. *Neurol Sci* 32, 893-897.
432. Roxburgh, R.H., Seaman, S.R., Masterman, T., Hensiek, A.E., Sawcer, S.J., Vukusic, S., Achiti, I., Confavreux, C., Coustans, M., le Page, E., et al. (2005). Multiple Sclerosis Severity Score: using disability and disease duration to rate disease severity. *Neurology* 64, 1144-1151.
433. Polman, C.H., and Rudick, R.A. (2010). The multiple sclerosis functional composite: a clinically meaningful measure of disability. *Neurology* 74 Suppl 3, S8-15.
434. Sharrack, B., and Hughes, R.A. (1996). Clinical scales for multiple sclerosis. *Journal of the neurological sciences* 135, 1-9.
435. Goodkin, D.E., Hertsgaard, D., and Seminary, J. (1988). Upper extremity function in multiple sclerosis: improving assessment sensitivity with box-and-block and nine-hole peg tests. *Arch Phys Med Rehabil* 69, 850-854.
436. Hobart, J., Freeman, J., and Thompson, A. (2000). Kurtzke scales revisited: the application of psychometric methods to clinical intuition. *Brain : a journal of neurology* 123 (Pt 5), 1027-1040.
437. Pachner, A.R., and Steiner, I. (2009). The multiple sclerosis severity score (MSSS) predicts disease severity over time. *Journal of the neurological sciences* 278, 66-70.

438. Folstein, M.F., Folstein, S.E., and McHugh, P.R. (1975). "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 12, 189-198.
439. Jahanshahi, M., Pieter, S., Alusi, S.H., Jones, C.R., Glickman, S., Stein, J., Aziz, T., and Bain, P.G. (2008). Effects on cognition of stereotactic lesional surgery for the treatment of tremor in multiple sclerosis. *Behav Neurol* 20, 1-9.
440. Dahlslett, S.B., Goektas, O., Schmidt, F., Harms, L., Olze, H., and Fleiner, F. (2012). Psychophysiological and electrophysiological testing of olfactory and gustatory function in patients with multiple sclerosis. *Eur Arch Otorhinolaryngol* 269, 1163-1169.
441. Swirsky-Sacchetti, T., Field, H.L., Mitchell, D.R., Seward, J., Lublin, F.D., Knobler, R.L., and Gonzalez, C.F. (1992). The sensitivity of the Mini-Mental State Exam in the white matter dementia of multiple sclerosis. *J Clin Psychol* 48, 779-786.
442. Morgado J, R.C.S., Maruta C, Guerreiro M, Martins IP. (2009). Novos Valores Normativos do Mini-Mental State Examination. *sinapse* 9, 10-16.
443. Wang, Y.C., Magasi, S.R., Bohannon, R.W., Reuben, D.B., McCreath, H.E., Bubela, D.J., Gershon, R.C., and Rymer, W.Z. (2011). Assessing dexterity function: a comparison of two alternatives for the NIH Toolbox. *J Hand Ther* 24, 313-320; quiz 321.
444. Rudick, R.A., Cutter, G., and Reingold, S. (2002). The multiple sclerosis functional composite: a new clinical outcome measure for multiple sclerosis trials. *Multiple sclerosis* 8, 359-365.
445. Cutter, G.R., Baier, M.L., Rudick, R.A., Cookfair, D.L., Fischer, J.S., Petkau, J., Syndulko, K., Weinshenker, B.G., Antel, J.P., Confavreux, C., et al. (1999). Development of a multiple sclerosis functional composite as a clinical trial outcome measure. *Brain : a journal of neurology* 122 (Pt 5), 871-882.
446. Yozbatiran, N., Baskurt, F., Baskurt, Z., Ozakbas, S., and Idiman, E. (2006). Motor assessment of upper extremity function and its relation with fatigue, cognitive function and quality of life in multiple sclerosis patients. *Journal of the neurological sciences* 246, 117-122.
447. Einarsson, U., Gottberg, K., von Koch, L., Fredrikson, S., Ytterberg, C., Jin, Y.P., Andersson, M., and Holmqvist, L.W. (2006). Cognitive and motor function in people with multiple sclerosis in Stockholm County. *Multiple sclerosis* 12, 340-353.
448. Kierkegaard, M., Einarsson, U., Gottberg, K., von Koch, L., and Holmqvist, L.W. (2012). The relationship between walking, manual dexterity, cognition and activity/participation in persons with multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 18, 639-646.
449. Miller, S.A., Dykes, D.D., and Polesky, H.F. (1988). A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16, 1215.
450. Olerup, O., Aldener, A., and Fogdell, A. (1993). HLA-DQB1 and -DQA1 typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours. *Tissue Antigens* 41, 119-134.
451. da Silva, A.M., Vilhena, E., Lopes, A., Santos, E., Goncalves, M.A., Pinto, C., Moreira, I., Mendonca, D., and Cavaco, S. (2011). Depression and anxiety in a Portuguese MS population: associations with physical disability and severity of disease. *Journal of the neurological sciences* 306, 66-70.
452. Masterman, T., and Hillert, J. (2004). The telltale scan: APOE epsilon4 in multiple sclerosis. *Lancet Neurol* 3, 331.
453. Parmenter, B.A., Denney, D.R., Lynch, S.G., Middleton, L.S., and Harlan, L.M. (2007). Cognitive impairment in patients with multiple sclerosis: association with the APOE gene and promoter polymorphisms. *Multiple sclerosis* 13, 25-32.
454. Engel, C., Greim, B., and Zettl, U.K. (2007). Diagnostics of cognitive dysfunctions in multiple sclerosis. *J Neurol* 254 Suppl 2, II30-34.
455. Lezak. (1995). *Neuropsychological Assessment*.
456. Spinnler H, T.G. (1987). Standardizzazione e taratura italiana di test neuropsicologici. *It J Neurol Sci* 6.

457. Cavaco, S., da Silva, A.M., Pinto, P., Coutinho, E., Santos, E., Bettencourt, A., Pinto, C., Gonçalves, A., Silva, S., Gomes, F., et al. (2009). Cognitive functioning in Behcet's disease. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1173, 217-226.
458. Meneses, R.F., Pais-Ribeiro, J.L., da Silva, A.M., and Giovagnoli, A.R. (2009). Neuropsychological predictors of quality of life in focal epilepsy. *Seizure* 18, 313-319.
459. Parente, A., Manfredi, V., Villani, F., Franceschetti, S., and Giovagnoli, A.R. (2013). Investigating higher-order cognitive functions in temporal lobe epilepsy: Cognitive estimation. *Epilepsy Behav.*
460. Nelson, H.E. (1976). A modified card sorting test sensitive to frontal lobe defects. *Cortex* 12, 313-324.
461. Benton, A.L., Sivan, A.B., Hamsher, K., Varney, N.R. & Spreen, O. (1994). *Contributions to Neuropsychological Assessment.*(New York: Oxford University Press).
462. Cavaco S, P.C., Gonçalves A, Gomes F, Pereira A, Silva S, Matos P, Malaquias C. (2008). Auditory Verbal Learning Test: Dados Normativos dos 21 aos 65 anos. *Psychologica* 49, 208-221.
463. Farrell Pagulayan, K., Busch, R.M., Medina, K.L., Bartok, J.A., and Krikorian, R. (2006). Developmental normative data for the Corsi Block-tapping task. *J Clin Exp Neuropsychol* 28, 1043-1052.
464. Corsi. (1972). Human memory and the medial temporal region of the brain. In. (McGill University.
465. Pais-Ribeiro, J., Silva, I., Ferreira, T., Martins, A., Meneses, R., and Baltar, M. (2007). Validation study of a Portuguese version of the Hospital Anxiety and Depression Scale. *Psychol Health Med* 12, 225-235; quiz 235-227.
466. Zigmond, A.S., and Snaith, R.P. (1983). The hospital anxiety and depression scale. *Acta psychiatrica Scandinavica* 67, 361-370.
467. Bruce, J.M., Hancock, L.M., Arnett, P., and Lynch, S. (2010). Treatment adherence in multiple sclerosis: association with emotional status, personality, and cognition. *J Behav Med* 33, 219-227.
468. Ehrensperger, M.M., Grether, A., Romer, G., Berres, M., Monsch, A.U., Kappos, L., and Steck, B. (2008). Neuropsychological dysfunction, depression, physical disability, and coping processes in families with a parent affected by multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 14, 1106-1112.
469. Goretti, B., Portaccio, E., Zipoli, V., Hakiki, B., Siracusa, G., Sorbi, S., and Amato, M.P. (2010). Impact of cognitive impairment on coping strategies in multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg* 112, 127-130.
470. Goverover, Y., Genova, H.M., Hillary, F.G., and DeLuca, J. (2007). The relationship between neuropsychological measures and the Timed Instrumental Activities of Daily Living task in multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 13, 636-644.
471. Langdon, D.W., and Thompson, A.J. (1999). Multiple sclerosis: a preliminary study of selected variables affecting rehabilitation outcome. *Multiple sclerosis* 5, 94-100.
472. Lacy, M., Hauser, M., Pliskin, N., Assuras, S., Valentine, M.O., and Reder, A. (2013). The effects of long-term interferon- beta-1b treatment on cognitive functioning in multiple sclerosis: a 16-year longitudinal study. *Multiple sclerosis*.
473. Jehna, M., Langkammer, C., Wallner-Blazek, M., Neuper, C., Loitfelder, M., Ropele, S., Fuchs, S., Khalil, M., Pluta-Fuerst, A., Fazekas, F., et al. (2011). Cognitively preserved MS patients demonstrate functional differences in processing neutral and emotional faces. *Brain Imaging Behav* 5, 241-251.
474. Santiago, O., Guardia, J., Casado, V., Carmona, O., and Arbizu, T. (2007). Specificity of frontal dysfunctions in relapsing-remitting multiple sclerosis. *Archives of clinical neuropsychology : the official journal of the National Academy of Neuropsychologists* 22, 623-629.
475. Landro, N.I., Celius, E.G., and Sletvold, H. (2004). Depressive symptoms account for deficient information processing speed but not for impaired working memory in early phase multiple sclerosis (MS). *Journal of the neurological sciences* 217, 211-216.

476. Rao, S.M., Hammeke, T.A., and Speech, T.J. (1987). Wisconsin Card Sorting Test performance in relapsing-remitting and chronic-progressive multiple sclerosis. *J Consult Clin Psychol* 55, 263-265.
477. Arnett, P.A., Rao, S.M., Grafman, J., Bernardin, L., Luchetta, T., Binder, J.R., and Lobeck, L. (1997). Executive functions in multiple sclerosis: an analysis of temporal ordering, semantic encoding, and planning abilities. *Neuropsychology* 11, 535-544.
478. Honarmand, K., and Feinstein, A. (2009). Validation of the Hospital Anxiety and Depression Scale for use with multiple sclerosis patients. *Multiple sclerosis* 15, 1518-1524.
479. Cavaco, S., Goncalves, A., Pinto, C., Almeida, E., Gomes, F., Moreira, I., Fernandes, J., and Teixeira-Pinto, A. (2013). Semantic Fluency and Phonemic Fluency: Regression-based Norms for the Portuguese Population. *Archives of clinical neuropsychology : the official journal of the National Academy of Neuropsychologists*.
480. Fernandes J, M.I., Gonçalves A, Pinto C, Almeida E, Gomes F, Damásio J, Loureiro R, Magalhães M, Cavaco S. (2013). Fluência verbal na doença de Huntington. In. (Sinapse), p 212.
481. Zakzanis, K.K. (2000). Distinct neurocognitive profiles in multiple sclerosis subtypes. *Archives of clinical neuropsychology : the official journal of the National Academy of Neuropsychologists* 15, 115-136.
482. Drake, M.A., Carra, A., Allegri, R.F., and Luetic, G. (2006). Differential patterns of memory performance in relapsing, remitting and secondary progressive multiple sclerosis. *Neurol India* 54, 370-376.
483. Thornton, A.E., and Raz, N. (1997). Memory impairment in multiple sclerosis: a quantitative review. *Neuropsychology* 11, 357-366.
484. Mackenzie, C., and Green, J. (2009). Cognitive-linguistic deficit and speech intelligibility in chronic progressive multiple sclerosis. *Int J Lang Commun Disord* 44, 401-420.
485. Jones, S., Nyberg, L., Sandblom, J., Stigsdotter Neely, A., Ingvar, M., Magnus Petersson, K., and Backman, L. (2006). Cognitive and neural plasticity in aging: general and task-specific limitations. *Neurosci Biobehav Rev* 30, 864-871.
486. Mahncke, H.W., Bronstone, A., and Merzenich, M.M. (2006). Brain plasticity and functional losses in the aged: scientific bases for a novel intervention. *Prog Brain Res* 157, 81-109.
487. Schoonheim, M.M., Geurts, J.J., Landi, D., Douw, L., van der Meer, M.L., Vrenken, H., Polman, C.H., Barkhof, F., and Stam, C.J. (2013). Functional connectivity changes in multiple sclerosis patients: a graph analytical study of MEG resting state data. *Hum Brain Mapp* 34, 52-61.
488. Schoonheim, M.M., Vigeveno, R.M., Lopes, F.C., Pouwels, P.J., Polman, C.H., Barkhof, F., and Geurts, J.J. (2013). Sex-specific extent and severity of white matter damage in multiple sclerosis: Implications for cognitive decline. *Hum Brain Mapp*.
489. Disanto, G., and Ramagopalan, S.V. (2013). On the sex ratio of multiple sclerosis. *Multiple sclerosis* 19, 3-4.
490. Ramagopalan, S.V., Byrnes, J.K., Orton, S.M., Dymment, D.A., Guimond, C., Yee, I.M., Ebers, G.C., and Sadovnick, A.D. (2010). Sex ratio of multiple sclerosis and clinical phenotype. *European journal of neurology : the official journal of the European Federation of Neurological Societies* 17, 634-637.
491. Orsini, A. (1994). Corsi's block-tapping test: standardization and concurrent validity with WISC-R for children aged 11 to 16. *Percept Mot Skills* 79, 1547-1554.
492. Orsini, A., Chiacchio, L., Cinque, M., Cocchiaro, C., Schiappa, O., and Grossi, D. (1986). Effects of age, education and sex on two tests of immediate memory: a study of normal subjects from 20 to 99 years of age. *Percept Mot Skills* 63, 727-732.
493. Feinstein, A. (2011). Multiple sclerosis and depression. *Multiple sclerosis* 17, 1276-1281.
494. Gold, S.M., and Irwin, M.R. (2009). Depression and immunity: inflammation and depressive symptoms in multiple sclerosis. *Immunol Allergy Clin North Am* 29, 309-320.

495. Ziemssen, T. (2009). Multiple sclerosis beyond EDSS: depression and fatigue. *Journal of the neurological sciences* 277 Suppl 1, S37-41.
496. Jacobson, N.S., and Truax, P. (1991). Clinical significance: a statistical approach to defining meaningful change in psychotherapy research. *J Consult Clin Psychol* 59, 12-19.
497. Sawrie, S.M., Chelune, G.J., Naugle, R.I., and Luders, H.O. (1996). Empirical methods for assessing meaningful neuropsychological change following epilepsy surgery. *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS* 2, 556-564.
498. Walker, L.A., Mendella, P.D., Stewart, A., Freedman, M.S., and Smith, A.M. (2011). Meaningful change in cognition in multiple sclerosis: method matters. *Can J Neurol Sci* 38, 282-288.
499. Piccinin, A.M., Muniz-Terrera, G., Clouston, S., Reynolds, C.A., Thorvaldsson, V., Deary, I.J., Deeg, D.J., Johansson, B., Mackinnon, A., Spiro, A., 3rd, et al. (2013). Coordinated analysis of age, sex, and education effects on change in MMSE scores. *The journals of gerontology Series B, Psychological sciences and social sciences* 68, 374-390.
500. Hall, C.B., Derby, C., LeValley, A., Katz, M.J., Verghese, J., and Lipton, R.B. (2007). Education delays accelerated decline on a memory test in persons who develop dementia. *Neurology* 69, 1657-1664.
501. Booth, A.J., Rodgers, J.D., Schwartz, C.E., Quaranto, B.R., Weinstock-Guttman, B., Zivadinov, R., and Benedict, R.H. (2013). Active cognitive reserve influences the regional atrophy to cognition link in multiple sclerosis. *Journal of the International Neuropsychological Society : JINS* 19, 1128-1133.
502. Weinshenker, B.G., Rice, G.P., Noseworthy, J.H., Carriere, W., Baskerville, J., and Ebers, G.C. (1991). The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. 3. Multivariate analysis of predictive factors and models of outcome. *Brain : a journal of neurology* 114 (Pt 2), 1045-1056.
503. Andersen, O. (2010). Predicting a window of therapeutic opportunity in multiple sclerosis. *Brain : a journal of neurology* 133, 1863-1865.
504. Ebers, G., Daumer, M., and Scalfari, A. (2010). Predicting a window of therapeutic opportunity in multiple sclerosis. *Brain : a journal of neurology* 133, e162; author reply e163.
505. Mori, F., Kusayanagi, H., Buttari, F., Centini, B., Monteleone, F., Nicoletti, C.G., Bernardi, G., Di Cantogno, E.V., Marciani, M.G., and Centonze, D. (2012). Early treatment with high-dose interferon beta-1a reverses cognitive and cortical plasticity deficits in multiple sclerosis. *Funct Neurol* 27, 163-168.
506. Beatty, W.W., Goodkin, D.E., Monson, N., Beatty, P.A., and Hertsgaard, D. (1988). Anterograde and retrograde amnesia in patients with chronic progressive multiple sclerosis. *Arch Neurol* 45, 611-619.

CAPÍTULO 5 – ANEXOS
